

**„Vergleichende molekularepidemiologische Studie
porciner und humaner MRSA in Deutschland
unter besonderer Berücksichtigung
der Antibiotikaresistenzen“**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Christian Paul Bieber

Bibliografische Informationen der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der
Deutschen Nationalbibliografie;
Detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

1. Auflage 2015

© 2015 by Verlag: **Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft Service GmbH**,
Gießen
Printed in Germany

ISBN 978-3-86345-240-7

Verlag: DVG Service GmbH
Friedrichstraße 17
35392 Gießen
0641/24466
info@dvf.de
www.dvf.de

Aus der „Klinik für Schweine (Innere Medizin und Chirurgie)“ der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Professor Dr. med. vet. Dr. habil. agr. Gerald Reiner

und

der „Sektion Krankenhaus- und Umwelthygiene“ des Universitätsklinikums Heidelberg

Betreuer: Professor Dr. med. Uwe Frank

**„Vergleichende molekularepidemiologische Studie porciner und humaner MRSA in
Deutschland unter besonderer Berücksichtigung der Antibiotikaresistenzen“**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von:

Christian Paul Bieber, Tierarzt

aus Mönchengladbach-Neuwerk

Gießen 2014

**Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität
Gießen**

Dekan: Professor Dr. Dr. h.c. Martin Kramer

Gutachter: Professor Dr. Dr. G. Reiner

Professor Dr. U. Frank

Tag der Disputation: 17.12.2014

Meinen Eltern

„labor omnia vincit improbus“

Vergil, Georgica

Die folgende Arbeit wurde auf der ECCMID 2013 in Berlin präsentiert

Poster:

P1968

Antibiotic resistance in livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) compared to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hospitalised patients

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Literaturübersicht	3
2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	3
2.1.1 Historischer Überblick	3
2.1.2 Gattungsmerkmale	4
2.1.3 Kulturmorphologie	4
2.1.4 Biochemische Differenzierung	4
2.1.5 Zellwandaufbau	5
2.1.6 Virulenzfaktoren	5
2.1.6.1 Protein A	6
2.1.6.2 Panton-Valentine-Leukozidin	6
2.2 Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.2.1 Einteilungsmöglichkeiten der MRSA	8
2.2.2 HA-MRSA	8
2.2.3 CA-MRSA	10
2.2.4 MRSA bei Tieren und Personen mit engem Tierkontakt	11
2.2.4.1 Geflügel	11
2.2.4.2 Wiederkäuer	12
2.2.4.3 Pferde	13
2.2.4.4 Kleintiere	14
2.2.4.5 Schweine	15
2.2.4.6 MRSA im Stallstaub	18
2.2.4.7 MRSA bei beruflich exponierten Personen	19
2.3 Nachweismethoden für MRSA	20
2.3.1 Kultureller Nachweis	20
2.3.2 Nachweis des <i>mecA</i> -Gens	21
2.4 Typisierungsverfahren	21
2.4.3 Pulsfeldgelelektrophorese	21
2.4.4 Multi-Locus-Sequenz-Typing	22
2.4.5 Spa-Typisierung	22
2.4.6 SCCmec-Typisierung	23
2.5 Die Resistenz von MRSA	23
2.5.1 Historischer Überblick	23
2.5.2 Resistenz gegenüber β -Laktam-Antibiotika	24
2.5.3 Resistenz gegenüber nicht β -Laktam-Antibiotika	25
2.5.3.1 Tetracykline	25
2.5.3.2 Chinolone	25
2.5.3.3 Aminoglycoside	26
2.5.3.4 Sulfonamide	26
2.5.3.5 Makrolide	27
2.5.3.6 Glycopeptide	28
2.5.3.7 Glycylcycline	28
2.5.3.8 Lincosamide	29
2.5.3.9 Oxazolidinone	29
2.5.3.10 Rifamycine	30
2.5.3.11 Terpene	30
2.5.3.12 Epoxyde	31
2.5.3.13 Mupirocin	31
2.5.3.14 Streptogramine	32
2.5.3.15 Desinfektionsmittelresistenzen	33
3. Material und Methoden	35
3.1 Probenplan und Probenmaterial	35
3.2 Probenentnahme und Transport	35
3.2.1 Nasentupferproben	36
3.2.2 Staubproben	37
3.2.3 Sockentupferproben	38

3.2.4 Tränkeproben	38
3.2.5 Spielzeugproben	39
3.2.6 Akquisition von MRSA-Proben der Krankenhauspatienten	39
3.3 Bakteriologische Untersuchung	39
3.3.1 Anreicherungsverfahren	39
3.3.1.1 Nasentupfer	39
3.3.1.2 Staubproben	40
3.3.1.3 Sockentupferproben	40
3.3.1.4 Tränkeproben	40
3.3.1.5 Spielzeugproben	40
3.3.2 Anzucht und Isolierung	40
3.3.3 Biochemische Differenzierung	41
3.3.3.1 Katalase-Test	41
3.3.3.2 Staph.Plus-Test	41
3.4 Asservierung der Proben	42
3.5 Identifikation der Proben	43
3.5.1 MALDI-TOF	43
3.6 Untersuchung der Antibiotikaresistenz	44
3.6.1 Antibiogrammerstellung mit dem Vitek 2	44
3.6.2 Agardiffusionstest nach EUCAST	45
3.7 Genotypisierung der MRSA-Isolate	47
3.7.1 Untersuchung der Proben mit dem MicroArray-System	47
3.8 Statistische Auswertung	52
4. Ergebnisse	53
4.1 Verteilung und Standorte der untersuchten Schweinehaltungsbetriebe	53
4.2 MRSA-Prävalenz in den untersuchten Betrieben	54
4.3 Prävalenz von MRSA bei unterschiedlichen Altersgruppen der Schweine	55
4.4 Prävalenz von MRSA bei Umgebungsproben	55
4.5 Prävalenz von MRSA bei beruflich exponierten Personen	56
4.6 Antibiotika-Resistenzen	57
4.6.1 Resistenzen gegenüber Antibiotika von MRSA-Isolaten beim Schwein	57
4.6.2 Resistenzen gegenüber Antibiotika bei MRSA aus der Stallumgebung	58
4.6.3 Resistenzen gegenüber Antibiotika bei MRSA-Isolaten von beruflich exponierten Personen	59
4.6.4 Resistenzen gegenüber Antibiotika bei MRSA-Isolaten von Krankenhauspatienten	60
4.7 Resistenzgene	62
4.7.1 Resistenzgene bei MRSA-Isolaten vom Schwein	62
4.7.2 Resistenzgene in MRSA-Isolaten der Umgebungsproben	63
4.7.3 Resistenzgene der MRSA-Isolate bei den beruflich exponierten Personen	64
4.7.4 Resistenzgene der MRSA-Isolate in der Gruppe der Krankenhauspatienten	65
4.8 Pantone-Valentine-Leukozidin	66
4.9 Desinfektionsmittelresistenzgene	67
4.10 MLST-Typisierung	68
4.10.1 Schweine	68
4.10.2 Stallumgebung	69
4.10.3 Exponierter Personenkreis	69
4.10.4 Krankenhauspatienten	69
5 Diskussion	73
5.1 MRSA-Prävalenz in den Beständen	73
5.2 MRSA-Prävalenz der Schweine	74
5.3 MRSA-Prävalenz der Umgebungsproben	74
5.4 MRSA-Prävalenz der beruflich exponierten Personen	75
5.5 Antibiotikaresistenzen	76
5.5.1 Schweine und Stallumgebung	76
5.5.2 Krankenhauspatienten	78
5.6 Reinigungsmittelresistenzen	80
5.7 MLST-Typen	80

Inhaltsverzeichnis	
5.7.1 Veterinärmedizinische MRSA	80
5.7.2 MLST-Typen bei Krankenhauspatienten	81
5.8 Panton-Valentine-Leukozidin	83
6 Schlussfolgerungen	84
7 Zusammenfassung	86
8 Summary	88
Literaturverzeichnis	90
Tabellenverzeichnis	107
Abbildungsverzeichnis	108
Anhang	110
Erklärung	111
Danksagung	112

Abkürzungsverzeichnis

AAC	Acetyltransferasen
AAD	Adenyltransferasen
AB	Antibiotikum
APH	Phosphotransferasen
BURP	based upon repeat patterns
BW	Baden-Württemberg
CA-MRSA	community associated MRSA
CC	Klonaler Komplex
Ccr	cassette chromosome recombinase
CHX	Chlorhexidin
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
d.h.	das heisst
DNA	Desoxyribonucleinsäure
ESBL	extended spectrum beta-lactamases
et al	et alii; und andere
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility
Fa.	Firma
HA-MRSA	hospital acquired MRSA
h	Stunden
HRP	horseradish peroxidase
KNS	Koagulase negative Staphylokokken
LA-MRSA	livestock-associated MRSA
MALDi-TOF	Matrix unterstützte Laser-Desorptions-/Ionisations Massenspektrometrie Time of Flight
MDR	Multi Drug Resistance
mg	Milligramm
MHK	Minimale Hemmkonzentration
ml	Milliliter
MLS	Makrolid Lincosamid Streptogramin
MSSA	Methicillin-sensitiver <i>S. aureus</i>
MRSA	Methicillin-resistenter <i>S. aureus</i>
MLST	Multi Locus Sequenze Typisierung
NRW	Nordrhein-Westfalen
NT-MRSA	Non-Typable MRSA
n	Gesamtzahl
NaCl	Natriumchlorid
PABA	p-Aminobenzoessäure
PBP	Penicillin-binding Protein
PBP 2a	Penicillin-binding Protein 2a
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PFGE	Pulsfeld-Gelelektrophorese
PVL	Panton-Valentine Leukozidin
QACs	Quaternäre Ammoniumverbindungen
RNA	Ribonucleinsäure
Rpm	Umdrehungen per Minute
RT-PCR	Real Time Polymerase Kettenreaktion
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SCCmec	staphylococcal cassette chromosome mec
SgA	Streptogramin A
SgB	Streptogramin B

Abkürzungsverzeichnis

Sog.	sogenannte
Spa	Staphylokokken Protein A
Spp.	Species pluralis
SSI	Surgical Site Infection
ST	Sequenztyp
TSST	Toxic Shock Syndrom Toxin
u.a.	unter anderem
USA	Vereinigten Staaten von Amerika
u.v.m.	und viele mehr
VRSA	Vancomycin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
z.B.	zum Beispiel

Einleitung

1. Einleitung

Seit Beginn der breiten Nutzung antibiotischer Stoffe gegen Mitte des zweiten Weltkrieges gab es Stimmen, die vor einem übermäßigen Gebrauch und damit einhergehender Entwicklung von Resistenzen bei Bakterien warnten. Sir Alexander Fleming sprach bereits von der Gefahr der Entwicklung von Resistenzen gegen die von ihm entwickelte „Wunderwaffe“ der Medizin. Die New York Times warnte schon 1945 vor den ersten Penicillin-resistenten Bakterien und das nur ein Jahr nach Beginn der breiten Nutzung des Präparates. Bereits ein Jahr zuvor war bei *S.aureus* ein potenter „Penicillin-Inaktivator“ gefunden worden (Kirby, 1944). Aufschlussreich ist in diesem Zusammenhang ein Zeitungsartikel aus dem Jahre 1961, welcher eindringlich den zurückhaltenden Einsatz von Antibiotika und eine wohl kalkulierte Chemotherapie empfiehlt (Journal, 1961). Überlegungen, die im Jahr 2013 nichts von ihrer Aktualität verloren haben und richtungsweisende Gedanken auch für die Tiermedizin aufzeigen.

In der Humanmedizin gilt MRSA als feststehendes Problem in der Krankenhaushygiene. MRSA zeichnen verantwortlich für eine ganze Reihe an schweren Wundinfektionen, von postoperativen Komplikationen, über verlängerte Aufenthaltsdauer im Krankenhaus bis hin zu Todesfällen. Waren dies in den letzten Jahrzehnten eher Ausnahme- denn Regelfälle, so hat sich dieser Problemkeim längst an das Gesundheitssystem anzupassen vermocht und baut seine Resistenzen und sein Auftreten stetig weiter aus. Über die letzte Dekade ist eine Zunahme der MRSA-assoziierten Fälle in Krankenhäusern nicht nur bundesweit, sondern europaweit festzustellen. Damit verbunden sind in zunehmendem Maße Therapieengpässe und sogar letal verlaufende Komplikationen bei humanen Patienten.

Auch in der Tiermedizin rückte MRSA in den Fokus der Öffentlichkeit. 2004/2005 wurde von Voss et al. eine Ausbreitungsmöglichkeit tierassoziiierter MRSA in das Gesundheitswesen hinein nachgewiesen (Voss et al., 2005). Die nun im Mittelpunkt der Forschung stehenden MRSA tierischer Herkunft wurden unter dem Oberbegriff der Livestock-associated MRSA (LA-MRSA) zusammengefasst. Es ist den LA-MRSA gelungen, sich an den Menschen zu adaptieren und sich dann in der menschlichen Gesellschaft weiter zu verbreiten. Ein solches Geschehen stellt unzweifelhaft ein noch nicht genau abzuschätzendes Risiko für die Gesellschaft dar, zumal direkt in Kontakt mit den betroffenen Tieren stehende Berufsgruppen ein erhöhtes Expositionsrisiko zu tragen scheinen. Dieses neuartige Problem darf nicht isoliert betrachtet werden. Vielmehr sind die medizinischen Fachrichtungen angehalten, sich dieser Herausforderung gemeinsam zu stellen.

Die Entstehungsgeschichte der Krankenhaus-assoziierten MRSA (sog. HA-MRSA) fällt direkt mit der Nutzung antibiotischer Wirkstoffe zusammen. Doch auch in der Tiermedizin ist der Einsatz von antibiotischen Wirkstoffen zur Behandlung von Tieren üblich. Es gilt zu klären, inwiefern ein Zusammenhang zwischen der Beschaffenheit tierischer MRSA und den in der Tiermedizin breit genutzten Präparaten und deren Mengen besteht. Ferner muss überprüft und auch gewährleistet werden, dass die in der Humanmedizin zurückhaltend eingesetzten Reserveantibiotika in ihrer Wirksamkeit nicht durch den Gebrauch von tiermedizinischen Antibiotika beschnitten werden. Des Weiteren muss die Möglichkeit des Ausbaus des Resistenzspektrums der LA-MRSA in Betracht gezogen werden. Eine Steigerung der Resistenz und Virulenz der LA-MRSA mit einhergehender Ausbreitung in die humanen Gesundheitssysteme sind dringend zu unterbinden.

Hier liegt der Ansatzpunkt der vorliegenden Dissertation. Durch eine vergleichende Studie human-assoziiierter MRSA (CA-MRSA; HA-MRSA) und Tier-assoziiierter MRSA (LA-MRSA) soll der Erregeraustausch zwischen Mensch und Tier auf der Basis molekular nachweisbarer Antibiotikaresistenzen untersucht werden. Hierbei soll ferner festgestellt werden, ob und wenn ja inwiefern, ein Eintrag von LA-MRSA in das Krankenhaus hinein stattgefunden hat.

Die vorliegende Arbeit soll damit einen Beitrag zur Ergründung der Dynamik von MRSA sowie anhand der Resistenzmuster, zur Sicherstellung der Gesundheit von Mensch und Tier leisten.

2. Literaturübersicht

2.1 *Staphylococcus aureus*

2.1.1 Historischer Überblick

Staphylococcus aureus ist der Wissenschaft seit nunmehr fast 140 Jahren bekannt. Der Deutsch-Österreicher Christian Albert Theodor Billroth (1829-1894) erwähnt 1874 in seinem Werk „Coccobacteria septica“ kugelförmige Mikroorganismen („Kugelmikroben“), welche er in Zusammenhang mit Eitermaterial brachte. Kurz darauf, 1878, gelingt Robert Koch der Nachweis des Eitererregers *Staphylococcus*. Ebenfalls kurze Zeit später, um 1880, züchtet Louis Pasteur (1822-1895) den Erreger aus klinischem Material in flüssigen Kulturmedien an. Der schottische Chirurg Alexander Ogston (1844-1929) beschrieb zeitgleich die klinische Bedeutung des Erregers und gab ihm den bis heute geführten Namen „*Staphylococcus*“, nach der Zusammenlagerung in Traubenform (griech.: staphyle-Traube/Weintraube und kokkos-Korn). Den Beinamen „aureus“ erhielt das Bakterium 1884 von Friedrich J. Rosenbach (Rosenbach, 1884). Dieser versuchte eine erste taxonomische Einordnung der Staphylokokken vorzunehmen. Hierbei klassifizierte er diese nach ihrer Koloniefarbe in *Staphylococcus pyogenes aureus* (lat.: der Goldene) sowie *Staphylococcus pyogenes albus* (lat.: der Weiße). Ein weiterer Meilenstein in der Geschichte der Staphylokokken war der 1926 durch Johann von Daranyi erkannte Zusammenhang von pathogenem Geschehen und der Koagulaseaktivität von *S. aureus*. Der durch Chapman 1934 entwickelte erste Koagulasetest mit Plasma, stellte die erste Differenzierungsmöglichkeit in pathogene und nicht-pathogene Staphylokokken-Stämme dar.

Als in den späten 20er-Jahren Sir Alexander Fleming (1881-1955) Glaspetrischalen reinigen lassen wollte, stellte er auf Platten mit *Staphylococcus aureus* einen Pilz fest, welcher das Wachstum des Bakteriums gehemmt hatte. Dieser Schimmelpilz wurde von Sir Fleming untersucht und als *Penicillium notatum* identifiziert. Er musste eine Substanz an den Agar abgegeben haben, die hemmend auf *S. aureus* eingewirkt hatte. Gegen Ende des zweiten Weltkrieges (1944) wurde Penicillin in großem Umfang von den alliierten Streitkräften zur Wundversorgung in Lazaretten eingesetzt. Bereits nach Kriegsende 1945 wurden erste Penicillin-resistente Staphylokokken ausgemacht. Der erste Bericht über Penicillin-resistente *S. aureus* wurde schon 1942 veröffentlicht (Rammelkamp, 1942). Diese Entwicklung gipfelte 1961 vorerst in der Methicillin-Resistenz von *S. aureus* und führte zu dem Begriff MRSA

(Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*). Weitere Antibiotikaresistenzen sollten folgen.

2.1.2 Gattungsmerkmale

In der Gattung „*Staphylococcus*“ sind kugelförmige Zellen von 0,5-1,5 µm Durchmesser zusammengefasst. Sie sind grampositiv und unbeweglich. „*Staphylococcus*“ lagert sich einzeln, paarweise oder in unregelmäßigen Gruppierungen zusammen. Die charakteristische Haufenform entsteht durch Teilung der Bakterien in mehreren Ebenen, dabei entsteht häufig eine traubenartige Struktur, welche namensgebend für das Bakterium war. Staphylokokken bilden keine Sporen, zeichnen sich jedoch durch eine enorme Tenazität aus. Sie werden leicht mit Staubteilchen übertragen und sind resistent gegenüber Austrocknung. So wachsen sie noch bei einem Kochsalzgehalt von bis zu 10%. Sie sind fakultative Anaerobier, d.h. sie vermehren sich sowohl unter aeroben als auch unter anaeroben Rahmenbedingungen. Staphylokokken sind katalasepositiv (Martinko, 2009; Mayr, 2007).

2.1.3 Kulturmorphologie

Staphylococcus aureus wächst optimal im Temperaturbereich von 30 bis 37°C. Allerdings ist ein Wachstum auch zwischen 10 und 45°C möglich. Hierbei stellt *S. aureus* geringe Ansprüche und lässt sich auf den meisten unselektiven Nährmedien anzüchten. Charakteristisches Wachstum zeigt er bei unterschiedlich ausgeprägter Ausbildung von Hämolyse auf Schafblutagar. Nach 18 bis 24 stündiger Bebrütung im Brutschrank zeigen sich etwa mittelgroße, feuchte, weiß bis gelbgoldene Kolonien. Die gelbgoldene Pigmentierung ist namensgebend, tritt aber nicht immer auf (Mayr, 2007).

2.1.4 Biochemische Differenzierung

Die Kulturmorphologie allein kann nicht zum Nachweis herangezogen werden. Innerhalb der Gattung „*Staphylococcus*“ kann *S. aureus* über die Produktion von Koagulase von den sogenannten Koagulase-negativen Staphylokokkenspezies (KNS) abgegrenzt werden. *S. aureus* vermAg freie Koagulase zu bilden, die zu den KNS zählenden *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* und weitere nicht. Eine weitere Abgrenzungsmöglichkeit bietet die Fähigkeit zur Produktion des eisenhaltigen Enzyms Katalase, Streptokokken und Enterokokken sind hierzu nicht in der Lage. Die Katalasereaktion dient somit als wichtiges und einfach zu prüfendes Abgrenzungskriterium. Ein positiver Katalase-Test kann das Vorliegen von *S. aureus* anzeigen. Über die Verwendung von Selektivmedien wie z.B. Chapman-Agar/Vogel-

Literaturübersicht

Johnson-Agar wird die Mannitspaltung und Kochsalz-/Telluritresistenz von *S. aureus* nachgewiesen.

2.1.5 Zellwandaufbau

Die bakterielle Zellwand von *S. aureus* ist aus Peptidoglycan-Molekülen aufgebaut, deren Hauptbestandteil Aminosucker sind, sog. Murein (auch als Mauermolekül bezeichnet). Das Stützskelett der Zellwand besteht also aus fortwährend sich wiederholenden Einheiten von N-Acetylmuraminsäure (Glucosamin mit einer Milchsäuregruppe) und N-Acetylglucosamin (ein Aminosuckerderivat). Diese sind über kürzere Peptidketten quervernetzt, welche ihrerseits aus D-Glutaminsäure, D-Alanin und M-Diaminopimelinsäure zusammengesetzt sind. Der Zellwand sind außen diverse Proteine, Polysaccharide und Teichonsäure angegliedert (Foster, 2012).

2.1.6 Virulenzfaktoren

Staphylokokken zeichnen sich durch die Produktion einer großen Bandbreite von virulenzassoziierten Enzymen und Toxinen aus (Mayr, 2007). Die Vielzahl an Virulenzfaktoren macht *S. aureus* zu einem potenten Krankheitserreger (Frick, 2010). Die Mehrheit der Staphylokokkenstämme verfügt über die Fähigkeit zur Produktion von diversen Enzymen und Zytotoxinen, dazu zählen Nukleasen, Proteasen, Lipasen, Hyaluronidasen, Kollagenasen und Hämolysine (α , β , γ und δ). Sie alle nutzt *S. aureus* zum Abbau von Wirtsgewebe, dem Ein- und Vordringen in Wunden und dem Erschließen von Nährstoffen aus dem Wirtsgewebe. Auch produzieren manche Stämme das Toxische Schock Syndrom Toxin 1 (TSST-1), einige Enterotoxine und exfoliative Toxine und auch Leukozidine (Dinges et al., 2000). Vor allem über die Befähigung zur Ausbildung eines Biofilms, eine Exopolysaccharidmatrix, gelingt es *S. aureus* seine Widerstandsfähigkeit gegenüber sowohl dem Immunsystem, als auch gegenüber Antibiotika und Desinfektionsmitteln in hohem Maß zu steigern. Dieser Biofilm wird durch verschiedenen Faktoren beeinflusst, zu denen Eisengehalt, Zuckergehalt, Sauerstoffgehalt, Umgebungstemperatur, pH-Wert und Osmolarität gehören (Ziegler, 2006). So geht man davon aus, dass in jedem Biofilm persistierende Zellen auftreten, die eine Behandlung mit Antibiotika überstehen (Foster, 2012). Zu den wichtigsten Virulenzfaktoren zählen Protein A und das Panton-Valentine-Leukozidin (PVL), welche im Folgenden kurz erläutert werden sollen. Weitere Virulenzfaktoren sind in Tabelle 1 aufgeführt.

2.1.6.1 Protein A:

Protein A ist ein Zellwandmolekül von *S. aureus*. Es ist kovalent an einem Peptidoglykanrest der Zellwand gebunden. Protein A ist in der Lage an die Fc-Region wirtseigener Antikörper zu binden (Deisenhofer, 1981; Goding, 1978; Sjoquist et al., 1972). Über diesen Mechanismus wird *S. aureus* vor den Phagozyten, verborgen. Dies geschieht auf zweierlei Art und Weise. Zum einen kann Protein A selbst die Fc-Region des Antikörpers binden, bevor eine Antigenbindungsstelle erreicht wurde, zum anderen ist auch noch nach Verbindung zwischen Antikörper und Antigen eine Blockade des Immunsystems möglich, wenn das Protein A von einem zweiten *S. aureus*-Bakterium an die Fc-Region des betreffenden Antikörpers bindet (Foster, 2012). Eine Opsonierung der Bakterien ist somit nicht mehr möglich (Mayr, 2007). Protein A kann zur Typisierung von *S. aureus*-Isolaten herangezogen werden, sie werden dann einem bestimmten spa-Typ zugeordnet. Dies erlaubt epidemiologische Zusammenhänge und Herkunftsaussagen zu machen (Frenay et al., 1996).

2.1.6.2 Panton-Valentine-Leukozidin (PVL):

Das Panton-Valentine-Leukozidin ist ein porenbildendes Toxin, das die Wirtsplasmamembran als Angriffsziel hat und verantwortlich für Abszesse und nekrotisierende Lungenentzündungen ist (Foster, 2012). PVL führt zu Wirtszellnekrose und auch Apoptose befallener Zellen (Sharma-Kuinkel et al., 2012). Vor allem wird eine Verbindung zu schwer verlaufenden nekrotisierenden Pneumonien beim Menschen gesehen (Francis et al., 2005; Gillet et al., 2002). Allerdings stellten Sharma-Kuinkel et al. (2012) fest, dass das Vorhandensein von PVL nicht mit einer höheren Sterblichkeitsrate von Pneumoniepatienten in Verbindung gebracht werden kann. PVL setzt sich aus zwei separaten Komponenten zusammen, die man auch S-/ und F-Komponenten nannte (Woodin, 1959, 1960). Die Arbeitsgruppe um G. Prevost zeigte, dass die beiden Gene *lukS-PV* und *lukF-PV* für das PVL codieren (Prevost et al., 1995). Sind die oben im Text angesprochenen Komponenten allein vorhanden, so stellt sich keine leukotoxische Aktivität ein (Konig et al., 1997).

Literaturübersicht

Tabelle 1: Virulenzgene von *S. aureus*, modifiziert nach Foster (2002)

Virulenzmerkmal	Lokalisation	Angriffspunkt	Wirkung
Protein A	Zellwandassoziiertes Protein	Fc-Teil Immunglobulin G	Opsonierung eingeschränkt; Hemmung phagozytierender Zellen
Kapsel	Oberflächengebundene Schleimkapsel	Gefäß-/Abwehrzellen	Biofilme; Schutz vor Immunabwehr
Katalase	Sekretorisches Protein	Sauerstoffradikale	Begrenzung der Wirkung von Sauerstoffradikalen
DNase	Sekretorisches Protein	Nukleinsäuren	Erbgutschädigung
α-Toxin	Sekretorisches Protein	Membran von Körperzellen; Zellkoagulation	Schädigung der Endothelzellen; intravasale Koagulation; <i>DermAtonekrotische</i> Wirkung; Porenbildung an Zellmembranen
β-Toxin	Sekretorisches Protein	Erythrozyten; Monozyten; Sphingomyelinase	Hämolyse; sclerale Ödeme; hämorrhagische Organveränderungen
TSST-1 und Enterotoxine	Sekretorisches Protein	Superantigene Wirkung; MHC II Anbindung, hiernach starke T-Zell Aktivierung	Fieber; Immunsuppression; Emesis; Lebensmittelintoxikation; Endotoxinschock
Exfoliativen Toxine	Sekretorisches Protein	Bindung an keratohyaline Granula im Stratum granulosum	Exfoliative <i>DermAtitis</i>
PVL	Sekretorisches Protein	Stimuliert und vernichtet polymorphkernige Leukozyten	Dermatonekrose; zytotoxische Wirkung
Koagulase	Oberflächenassoziiertes Protein	Prothrombin	Oberflächenhaftung; Fibrinogenaktivierung; Staphylothrombin-Komplexe
Elastin-bindende Protein	Oberflächennahes Exotoxin	Bestandteile der extrazellulären Matrix (Elastin)	Beteiligung an Gewebshaftung
Fibrinogen-bindendes Protein (Clumping factor A und B)	Zellwandassoziiertes Protein	Anbindung und Aktivierung von Fibrinogen	Aktivierung der Gerinnungskaskade; Aktivierung der Thrombozyten
Kollagen-bindendes Protein	Zellwandassoziiertes Protein	Direkte Anbindung an Kollagen	Bakterielle Arthritis/Osteomyelitis
Staphylokinase	Extrazelluläres Protein	Serin-Protease	Fibrinolyse
Fibronectin-bindendes Protein	Zellwandassoziiertes Protein	Multiadhäsionsproteine in der extrazellulären Matrix	Anheftung/Kolonisierung

2.2 Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*

MRSA bezeichnet Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus*. Sie grenzen sich durch das Vorliegen einer β -Laktam-Resistenz von gewöhnlichen *S. aureus* ab. Diese spezielle Antibiotikaresistenz wird den MRSA durch die Aufnahme und den Einbau einer mobilen genetischen Einheit, der SCCmec-Kassette (staphylococcal cassette chromosome mec), ermöglicht. Besagte SCCmec-Kassette beinhaltet das sog. *mecA*-Gen (Katayama et al., 2000). Das *mecA*-Gen wiederum codiert für ein modifiziertes Penicillin-bindungs-Protein (PBP), genannt PBP 2a. Es weist eine erheblich herabgesetzte Affinität für β -Laktamantibiotika auf und behindert somit den Angriff der Penicilline, Cephalosporine und Carbapeneme auf die bakterielle Zellwandsynthese (Berger-Bachi, 1999).

2.2.1 Einteilungsmöglichkeiten der MRSA

MRSA stellen ein vielschichtiges Problem dar. MRSA werden in drei große Gruppierungen eingeteilt. Es ist im allgemeinen sinnvoll zwischen HA-MRSA (hospital-acquired MRSA), CA-MRSA (community-acquired MRSA) sowie LA-MRSA (livestock-associated MRSA) zu unterscheiden (Morgan, 2008). Im Folgenden soll kurz auf den Hintergrund der Einteilung eingegangen werden und bzgl. der MRSA mit Veterinärmedizin/Landwirtschaftsbezug die Verbreitung bei den einzelnen Tierarten besprochen werden.

2.2.2 HA-MRSA

Der Begriff HA-MRSA bezeichnet „hospital-acquired“ MRSA, also MRSA, welche in Zusammenhang mit Gesundheitseinrichtungen gebracht werden. Bis zum Ende der 90er Jahre galten MRSA beinahe ausschließlich als krankenhaussassoziierte Problemkeime (Layer et al., 2012). Innerhalb der HA-MRSA können mehrere klonale Linien identifiziert werden. Jedoch können, beruhend auf gesammelten Daten der Jahre 2005 bis 2011, zwei klonale Linien als dominant angesehen werden. Aktuell sind die klonalen Linien ST22-MRSA IV (auch als „Barnim-Epidemie-Stamm“ bezeichnet) und ST5/ST225-MRSA II (auch „Rhein-Hessen-Epidemiestamm“ genannt) am weitesten und häufigsten in deutschen Krankenhäusern verbreitet. Sie zeigen beide ein deutlich schmaleres Resistenzspektrum im Vergleich zu älteren epidemischen MRSA (Layer, Cuny et al. 2012).

Das allgemeine Auftreten von HA-MRSA wird in Verbindung mit bestimmten Risikofaktoren gesehen, die mit Krankenhausbehandlungen in Zusammenhang gebracht werden können. HA-MRSA zeichnen verantwortlich für eine ganze Bandbreite schwerer Erkrankungen bei

Literaturübersicht

humanen Patienten. Sie reicht von Osteomyelitis, intra-abdominaler Infektionen/Entzündungen über schwere Wundinfektionen bis hin zu Pneumonien und Bakteriämie (Haddadin et al., 2002). Allerdings sind insbesondere Haut- und Weichteilinfektionen mit MRSA zu verknüpfen (Huang et al., 2006). Krankenhausbedingte MRSA-Infektionen werden als einer der Hauptgründe für Todesfälle und Krankheit angesehen (Klein et al., 2007). In deutschen Krankenhäusern stehen deutlich chirurgische Wundinfektionen, Septikämien, Pneumonien und seit kurzem ein Trend zu Harnwegsinfekten im Vordergrund (Layer et al., 2012). Als Risikogruppen innerhalb des Krankenhauses gelten immunsupprimierte, ältere Personen, Intensivpatienten und Patienten, welche unter starker antibiotischer Behandlung stehen, sowie Patienten mit Kontakt zu MRSA-positiven Personen (Haddadin et al., 2002). Aufgrund der enormen gesundheitlichen Risiken und der sich schwierig gestaltenden Kontrollierbarkeit der Infektionen, hat sich an vielen Krankenhäusern ein Patientenscreening auf MRSA, in Verbindung mit einer Dekolonisationstherapie bei MRSA-Positiven, durchgesetzt. Zur nasalen Dekolonisation wird das Antibiotikum Mupirocin genutzt, es gilt als effektives Mittel zur Bekämpfung nasaler *S. aureus*-Trägerschaft (Wenzel and Perl, 1995). Bei der Anwendung von Mupirocin wird eine Erfolgsrate der Behandlung von MRSA in 90% der Fälle und innerhalb der ersten Behandlungswoche beobachtet. Die Mupirocinbehandlung wird daher als erfolgreichste Dekolonisationsmöglichkeit angesehen (Ammerlaan et al., 2009). In einer aktuellen Studie zur Ausbreitungskontrolle von MRSA wird ebenfalls die Dekolonisationstherapie als die effektivste Kontrollmaßnahme dargestellt, im Vergleich zur Patientenisolation (Gurieva et al., 2012). Problematisch ist innerhalb der Krankenhäuser die Verbreitung von HA-MRSA über das Pflegepersonal, Medizinstudenten und Ärzte selbst zu sehen, denn sie könnten als Reservoir fungieren (Lopez-Aguilera et al., 2013). Diverse Studien belegen die relativ hohe Besiedlungsrate durch *S. aureus* allgemein und hierunter das Auftreten von MRSA bei medizinischem Fachpersonal (Akhtar, 2010; Lopez-Aguilera et al., 2013; Ma et al., 2011). Innerhalb der Gruppe des medizinischen Fachpersonals fielen Krankenschwestern mit der höchsten MRSA-Besiedlungsrate auf (Elie-Turenne et al., 2010). Untermauert werden diese Ergebnisse durch eine Studie aus Libyen, in welcher über 500 Ärzte und Krankenschwestern auf MRSA untersucht wurden. Man kommt zu dem Schluss, dass Pflegepersonal als MRSA-Träger und -Verbreiter angesehen werden müssen (Ahmed et al., 2012). Doch auch Medizinstudenten stehen zunehmend im Fokus der Untersuchung der Verbreitungswege von MRSA innerhalb der medizinischen Einrichtungen. So wurde in einer neueren Studie das Augenmerk auf die Handhygiene der Studenten bei Patientenbesuchen gelegt. Dabei stellte man neben ihrem MRSA-Status, ihre

Handhygienegewohnheiten fest. Über 55 % der Studenten (n=140) wuschen sich nicht die Hände vor Patientenkontakt, nur ca. 38 % wuschen sie nach Kontakt und über 35 % ignorierten Handhygieneprotokolle vollständig (Lopez-Aguilera et al., 2013). Gerade die Verbreitung von MRSA wird seit längerem in Verbindung mit der Ausbreitung über erregerbehaftete Hände von Pflegepersonal gebracht (Thompson et al., 1982). Beunruhigend ist ein in den Vereinigten Staaten zu beobachtender Vorgang, welcher ein vermehrtes Verdrängen und eine vermehrte Coexistenz von HA-MRSA innerhalb der Krankenhäuser durch und mit CA-MRSA befürchten lässt (Klein et al., 2009; Kouyos et al., 2013).

2.2.3 CA-MRSA

CA-MRSA steht für “community-associated” MRSA, kann aber auch “community-adapted” oder “community-acquired” bedeuten (Linde, 2008). Sie sind von HA-MRSA abzugrenzen und führen zu Infektionen innerhalb eines Personenkreises der nicht in direktem Kontakt zu Gesundheitseinrichtungen (z.B. Krankenhäuser) steht (Deresinski, 2005; Linde, 2008; Otter and French, 2010; Springer et al., 2009). CA-MRSA weisen einen anderen genetischen Hintergrund als HA-MRSA auf (Chambers and Deleo, 2009; Vandenesch et al., 2003). Zusätzlich verfügen CA-MRSA im Vergleich zu HA-MRSA über abweichende Resistenzprofile gegenüber antibiotischen Substanzen (Naimi et al., 2003; Okuma et al., 2002). Doch auch bzgl. der Virulenzeigenschaften gibt es markante Unterschiede. CA-MRSA tragen häufig andere Exotoxigen-Profile (Naimi et al., 2003). Allen voran sei hier das, im Vergleich zu HA-MRSA, gehäufte Auftreten von PVL zu nennen (Otter et al., 2010). Weitere Charakteristika, die CA-MRSA von HA-MRSA abgrenzen, sind eine erhöhte Übertragbarkeit und gesteigerte Virulenz (DeLeo et al., 2010). CA-MRSA-Infektionen äußern sich in Weichteil- und Hautinfektionen sowie Abszessen, Endocarditis, Sepsis, Knochenzerstörung, Lungenembolie und nekrotisierender Pneumonie (Crum, 2005; Dufour et al., 2002; Linde, 2008). Problematisch ist die Fähigkeit zur sehr raschen Übertragung zwischen primär gesunden Personen (Chambers and Deleo, 2009). Weltweit wird vom Auftreten und von Infektionen in Zusammenhang mit CA-MRSA berichtet. CA-MRSA erlangen hierbei zunehmend den Status eines bedeutenden Pathogens innerhalb der Gesellschaft (Deresinski, 2005). Als besonders betroffen galten in der Vergangenheit zum Beispiel Armeeerekruten und Kontaktsportler (Cohen, 2005; Zinderman et al., 2004). Die Prävalenz von CA-MRSA scheint rückblickend über die letzte Dekade stark anzusteigen (Kouyos et al., 2013). Einer amerikanischen Studie nach stieg der Anteil an CA-MRSA innerhalb des Aufkommens an MRSA-Isolaten allgemein von 8,7 % (43 von 507 MRSA-Kulturen) im Jahr 1996 auf 39,6 %

Literaturübersicht

(672 von 1697 MRSA-Kulturen) im Jahre 2005 (McMullen et al., 2009). Eine weitere Studie zieht einen Vergleich zwischen CA-MRSA Aufkommen und HA-MRSA Aufkommen bei 1100 MRSA-Infektionen. Man konnte CA-MRSA in 12 % (n=131) der untersuchten Isolate nachweisen, welche überdurchschnittlich oft (75 %) mit Haut-/Weichteilinfektionen verknüpft waren (Naimi et al., 2003). In Europa gilt das Auftreten von CA-MRSA bisher im Vergleich zu den USA als gering. In der EU dominiert ST80-MRSA IV, während in den USA ST8-MRSA IV („USA300“) weitverbreitet ist (Otter and French, 2010; Witte et al., 2007a). Zwar wird CA-MRSA von HA-MRSA differenziert, doch findet auch zunehmend ein Eintrag in Krankenhäuser statt. Schon vor 10 Jahren betrug der Anteil von CA-MRSA innerhalb von zahlreichen Krankenhäusern über 30 % bis zu 40 %, gemessen am Gesamt-MRSA-Aufkommen (Salgado et al., 2003). Diese relativ hohen Nachweisraten werden auch von neueren Vergleichsstudien zwischen HA-MRSA und CA-MRSA und ihrem Auftreten in Krankenhäusern gestützt (Huang et al., 2006). Es wird aktuell diskutiert, ob eine Koexistenz oder sogar ein weitgehender Austausch von HA-MRSA und CA-MRSA in Krankenhäusern stattfindet und welche Folgen dies haben könnte (Kouyos et al., 2013).

2.2.4 MRSA bei Tieren und Personen mit engem Tierkontakt

Die als livestock-associated MRSA (LA-MRSA) bezeichneten MRSA gelten im Regelfall als mit der konventionellen Tiermast in Verbindung zu bringende MRSA. Dies bezieht die mit diesen Tieren (insbesondere Schweinehaltung, aber auch Mastrinder und Mastgeflügel) in engem Arbeitskontakt stehenden Menschen mit ein (Layer et al., 2012). In der Pferdehaltung z.B. scheinen hingegen vorrangig CA-MRSA ein Problem darzustellen. Im Folgenden soll kurz auf die jeweiligen veterinärmedizinisch relevanten Tierarten und v.a. den Personenkreis mit beruflichem Tierkontakt eingegangen werden.

2.2.4.1 Geflügel

Die Berichte über die Isolation von MRSA bei Geflügel stammen sämtlich aus der jüngeren Vergangenheit. Mit wenigen Ausnahmen beziehen sich diese aber auf das Lebensmittel Geflügel (de Boer et al., 2009). Im Rahmen retrospektiver Untersuchungen von neunzig belgischen *S. aureus* Isolaten von 1970 bis 1972 konnten keine MRSA nachgewiesen werden (Nemati et al., 2008). Allerdings gelang in Korea der Nachweis von drei MRSA-Isolaten im Zeitraum von 2001 bis 2003 (eine Geflügelfleischprobe und zwei Ballenverletzungen) (Lee, 2003). Bei Betriebsuntersuchungen in Belgien konnte erstmalig das Auftreten von MRSA bei gesundem Geflügel aufgezeigt werden. Der Umfang betrug zehn MRSA-positive Isolate aus

der Beprobung von fünf Betrieben (Quote 12,3 %; n=39). Sie gehörten alle dem Typ ST398 und den spa Typen t011, t567, sowie den SCCmec Typen III, Iva und V an (Nemati et al., 2008). Ebenfalls in Belgien konnten 2009 bei zwei von 14 Betrieben (Broilerproduzierende Betriebe) MRSA vom Typ ST398 spa Typ t1456 isoliert werden. Ein Bestandteil der Studie war die Beprobung von Legehennenbetrieben, welche vollständig negativ ausfiel (Persoons et al., 2009). Im Nachbarstaat, den Niederlanden, kam eine Untersuchung von an den Schlachthof gelieferten Hähnchen zu dem Ergebnis, dass 7 % aller Tiere als MRSA-positiv angesehen werden mußten (Mulders et al., 2010). In Norddeutschland konnte Dullweber in 270 Proben aus 30 Geflügelbeständen in 26 % der Proben MRSA nachweisen (Dullweber, 2010). Es besteht bei Kontakt zu Wirtschaftsgeflügel auch für den Menschen ein gewisses Risiko. Im Rahmen einer Prävalenzstudie, wiederum in Belgien, an der 50 Betriebe teilnahmen, gelang bei 5,5 % (n=145) der auf den Betrieben lebenden bzw. arbeitenden Personen die Isolation von MRSA (Geenen et al., 2012). Die im Vergleich mit Hühnern stärker von MRSA betroffen zu sein scheinenden Wirtschaftsgeflügel sind Puten (Truthähne). Zum Beispiel liegt in einer Studie zur Untersuchung von Mastbetrieben für Puten die Prävalenz bei 90 % (n=20) und die der auf den Farmen lebenden Personen bei über 37 % (n=59). Es wurden sowohl Tiere, als auch Umgebungsstaubproben aus den Stallanlagen positiv getestet, fast ausschliesslich lagen MLST CC398 der spa Typen t011 (83,2 % der aviären Isolate; 90,2 % der humanen Isolate), t1456, t034 und t2330 vor (Richter et al., 2012).

2.2.4.2 Wiederkäuer

In den frühen 1970er Jahren erfolgte bei einer Milchkuh mit Mastitis der für die Veterinärmedizin erste Nachweis von MRSA im Zusammenhang mit Nutztieren (Devriese et al., 1972). Staphylokokken-Mastitiden sind weltweit mit einer der bedeutendsten Infektionskrankheiten der Rinderhaltung, Haupterreger ist hierbei *S. aureus* (Mayr, 2007). Europaweit wurden in den letzten Jahren bei Wiederkäuern MRSA nachgewiesen. In Belgien konnten in Milchviehbeständen MRSA bei bis zu 15 % der untersuchten Rinder isoliert werden, die Isolate gehörten zu MLST 398 (Vicca, 2008). Auch in Tankmilchproben konnten MRSA detektiert werden. In 118 *S. aureus* aus Tankmilchproben konnten über den Nachweis von *mecA* und Antibiotikatestungen 11 (9,3 %) MRSA isoliert werden (Vanderhaeghen et al., 2010). Im asiatischen Raum allerdings konnten in einer Studie schon im Jahr 2003 bei 75 % ihrer untersuchten Melkproben MRSA isoliert werden (Lee, 2003). Auch die Übertragung von MRSA auf die mit den Tieren arbeitenden Menschen kann aufgezeigt und mit Studien untermauert werden, so zeigten ungarische Untersuchungen von MRSA positiven Rindern

Literaturübersicht

und einem ebenfalls positiven Betriebsmitarbeiter, bei allen Isolaten den gleichen spa-Typ t127 (assoziiert mit ST1) (Juhasz-Kaszanyitzky et al., 2007). Bei der Untersuchung von 17 Rinderbetrieben wurden MRSA ST 398 sowohl bei den Rindern, als auch bei Betriebsmitarbeitern isoliert. Die MRSA gehörten zu den drei spa Typen t011, t034 und t2576 und SCCmec IV und V (Fessler et al., 2010). Schließlich konnten auch in Holland bei Mastkälbern und den Familien der zu den Betrieben gehörenden Landwirte hohe Nachweisquoten erbracht werden. Die Herdenprävalenz lag bei 88 % und 33 % der Landwirte und 8 % Familienangehörigen wiesen MRSA genetisch identische Isolate auf (ST398, t011 und t034). Allerdings wurde adäquates Hygienemanagement mit niedrigerer Prävalenz und im Gegensatz hierzu ein Anstieg der Prävalenz bei Vorbehandlung der Tiere mit Antibiotika in Verbindung gebracht (Graveland et al., 2010). Im Zusammenhang mit dem Risiko für MRSA-Trägerschaft bei Kälbern wird auf die Verknüpfung von Antibiotikaverbrauch und MRSA-Status aufmerksam gemacht (Bos et al., 2012). Sie hatten in einer Untersuchung von 102 Farmen in den Niederlanden Gruppenbehandlungen mit Antibiotika als einen der Risikofaktoren für MRSA-Trägerschaft betont. Doch nicht nur für Bestandsmitarbeiter oder deren auf dem Hof lebenden Familien, sondern auch für Besucher besteht das Risiko MRSA ausgesetzt zu werden. Durch den Bestandsbesuch einer MRSA positiven Kälberfarm existiert das Risiko MRSA als zeitlich begrenzter Träger zu erwerben (van Cleef et al., 2011). MRSA konnten nicht nur mit Rindern selbst in Verbindung gebracht werden. Auch in Deutschland scheint eine Verschleppung in die Lebensmittelkette hinein möglich zu sein. MRSA des klonalen Komplexes CC398 wurden z.B. in Sammeltankmilchproben deutscher Betriebe gefunden (Kreusukon et al., 2012).

2.2.4.3 Pferde

Gegen Ende der 1990er Jahre wird erstmalig MRSA in Zusammenhang mit einer postoperativen Wundinfektion beim Pferd gebracht (Hartmann et al., 1997). Einen der ersten direkten Zusammenhänge zwischen der MRSA bedingten Erkrankung eines Menschen mit direktem Kontakt zu infizierten Pferden schildern Weese et al (2005). Sie untersuchten Tiere und Kontaktpersonen in einem Veterinärhospital und einer Farm. 93 % der Isolate insgesamt gehörten zum MRSA-5, spa Typ 7, SCCmec IV und waren PVL negativ (Weese et al., 2005). Postoperative Wundinfektionen beim Pferd durch *S. aureus* können häufig mit MRSA in Verbindung gebracht werden. So waren von 70 *S. aureus* Isolaten aus in Pferdekliniken untergebrachten Pferden 40 MRSA. Sie gehörten mehrheitlich zu MRSA ST398, t011, SCCmec IVa (Sieber et al., 2011). Desweiteren konnte MRSA mit Nahtinfektionen beim

Pferd (surgical site infections, SSI) und traumatischen Wundinfektionen verknüpft werden (Anderson et al., 2009; Bergstrom et al., 2012; van Duijkeren et al., 2010; Weese et al., 2006c). In einer israelischen Studie von 2013 wird auf die definitive Möglichkeit der Übertragung von MRSA zwischen Menschen und Tieren hingewiesen und im Rahmen einer Beprobung von 84 Pferden und 139 Personen der MRSA-Nachweis in 14,3 % bzw. 11,5 % der beprobten Pferde und Menschen erbracht. Der dominante MRSA Typ war hier MLST ST5, spa Typ t535 SCCmec Typ V, PVL negativ (Schwaber et al., 2013). Die Abklärung von Hautinfektionen durch MRSA bei Pferdepflegepersonal in einer Veterinäreinrichtung zeigte die Übertragung von CA-MRSA von einem kolonisierten und infizierten Fohlen auf das Personal (Weese et al., 2006a). Die MRSA wurden als MLST ST5, SCCmec Typ IV, PVL negativ klassifiziert. Auch in weiteren Studien war bei Veterinär- und Stallpersonal, sowie bei Pferdebesitzern und zugehörigen Pferden MRSA identischer klonaler Linien gefunden worden, was die Übertragung von Mensch zu Pferd und umgekehrt sehr wahrscheinlich werden lässt (O'Mahony et al., 2005; Seguin et al., 1999; Weese et al., 2006a). Eine Untersuchung der normalen, gesunden, Pferdepopulation, ohne direkten Zusammenhang zu einer Veterinärklinik, erbrachte nur in einem Fall (0,53 %; n=189) auf einer einzelnen Farm (10 %; n=10) den Nachweis von MRSA aus der Nase eines Pferdes. Das Isolat gehörte zu CC398, spa Typ t011, SCCmec V (Van den Eede et al., 2012). MRSA des klonalen Komplexes CC398 ist inzwischen ein bedeutendes Pferdepathogen geworden und zirkuliert in Veterinär-Pferdekliniken (Van den Eede et al., 2012). Es besteht die Möglichkeit, dass kolonisierte Pferde MRSA auf weitere Tiere und Menschen übertragen (Van den Eede et al., 2009; Weese et al., 2006c; Weese and van Duijkeren, 2010).

2.2.4.4 Kleintiere

Neben der Verbreitung von MRSA im Nutztiersektor, ist in den letzten Jahren eine Zunahme der MRSA-Infektionen bei Haustieren zu verzeichnen. Es wird in diesem Zusammenhang schon von der Gefahr eines zunehmenden zoonotischen Pathogens gesprochen (Weese et al., 2006b). Nahezu sämtliche gängigen Haustiere wurden mit MRSA in Verbindung gebracht. Sowohl bei Hunden (Floras et al., 2010; Loeffler et al., 2010; Morris et al., 2012; Tomlin et al., 1999) als auch bei Katzen (Loeffler et al., 2010; Morris et al., 2012; Sing et al., 2008; Vitale et al., 2006), konnten in den letzten Jahren mehrfach in diversen Studien MRSA isoliert werden. Doch auch kleine Haustiere wie z.B. Hamster sind von der MRSA-Problematik betroffen (Ferreira et al., 2011). Im Regelfall wird beim Haustier von Haut- und Weichteilinfektionen und chirurgischen Komplikationen, sowie klinischen Infektionen

Literaturübersicht

berichtet, die in Zusammenhang mit dem Problemkeim MRSA stehen (Loeffler et al., 2005; Rankin et al., 2005; Tomlin et al., 1999; Weese et al., 2006b). Vor allem orthopädische Eingriffe waren in der Vergangenheit mit dem Auftreten von Infektionen verknüpft (Tomlin et al. 1999). Es wird hervorgehoben, dass regelmäßig ein therapeutischer Misserfolg mit Methicillin-resistenten Staphylokokken in Verbindung gebracht werden kann (Cain, 2013). Gerade in Tierkliniken stellt MRSA ein mögliches Problem dar. In Großbritannien wurden 2005 über 70 Angestellte einer großen Tierklinik untersucht und der Arbeitsplatz mittels 30 Umgebungsproben überprüft, ferner weitreichende Tierproben entnommen, mit dem Ziel den Status der MRSA-Verbreitung aufzudecken. Hierbei wies die untersuchende wissenschaftliche Arbeitsgruppe in über 17 % der tiermedizinischen Angestellten (n=78) und in 10 % der Umgebungsproben (n=30) MRSA nach. Es wird in der Studie auf den Umstand hingewiesen, dass das Risiko für veterinärmedizinisch Beschäftigte signifikant über dem der normalen britischen Bevölkerung liegt (Loeffler et al., 2005). Inwieweit das Reservoir für die Besiedlung von Haustieren mit MRSA allgemein bei den Haustieren oder bei den Besitzern liegt wird in der Wissenschaft kontrovers diskutiert. Insgesamt ist sowohl eine Mensch-zu-Tier als auch eine Tier-zu-Mensch Verschleppung von MRSA festzustellen bzw. wird diese vermutet (Loeffler and Lloyd, 2010; Manian, 2003; Weese et al., 2006b). In einer Studie in den USA wurden 66 Haushalte MRSA-positiver Menschen auf den MRSA-Status ihrer Haustiere überprüft. Hierbei gelang in 11,5 % (n=99) der Haustiere und damit in 9 % (n=66) der Haushalte der positive Nachweis. Allerdings konnte nur in sechs Haushalten eine Übereinstimmung der MRSA-Isolate zwischen menschlichen Besitzern und ihren Tieren nachgewiesen werden (Morris et al., 2012). Eine ähnlich konzipierte Studie untersuchte 49 MRSA-Patienten und deren Haustiere und stellte diesen eine negative Kontrollgruppe von 50 MRSA-negativen Patienten mit ihren Haustieren zur Überprüfung gegenüber. In über 8 % (n=49) der MRSA-Träger Haushalte konnte MRSA bei den Haustieren nachgewiesen werden, bei den negativen humanen Patienten waren auch die Tiere negativ (Ferreira et al., 2011).

2.2.4.5 Schwein

MRSA wurden 2005 erstmalig in unmittelbarem Zusammenhang mit der Haltung von Schweinen gebracht. Im Zuge der präoperativen Untersuchung eines Kleinkindes in einem Krankenhaus, wurde ein sogenannter non-typable MRSA (NT-MRSA) nachgewiesen. Die Aufarbeitung dieses Falles führte über den Beruf der Eltern, Schweinehalter, zu dem Nachweis der Besiedlung von Schweinen mit MRSA (Voss et al., 2005). Seit diesem Zeitpunkt hatten und haben zahlreiche Studien in verschiedenen Ländern zum Ziel den

Ursprung und die Ursache des Auftretens von MRSA beim Schwein zu ergründen. Allgemein wurden die MRSA ausgehend vom Schweinereservoir als LA-MRSA bezeichnet. In Europa handelt es sich hierbei bei Schweinen um vorwiegend MRSA vom MLST ST398 (Alt et al., 2011; Asai et al., 2012; Battisti et al., 2010; Crombe et al., 2012; Frick, 2010; Kock et al., 2013). Abweichend hiervon sind Berichte aus Asien, die MLST ST9 erheblich häufiger bei Schweinen und der Umgebung von Schweinen zuordnen können und diesen Typ als für Asien dominant ansehen (Asai et al., 2012; Wagenaar et al., 2009). Innerhalb der europäischen Grenzen und v.a. in Deutschland lassen sich die spa-Typen t011, sowie t034 am Häufigsten nachweisen, sie werden mit MLST ST398 assoziiert (Alt et al., 2011; de Neeling et al., 2007; Frick, 2010; Guardabassi et al., 2007; Heine, 2011; Kock et al., 2009; Kock et al., 2013; Meemken et al., 2010; Schwarz et al., 2008; Tenhagen et al., 2009). Die SCCmec-Typen, welche bei Schweinen und mit Schweinen assoziierten Proben nachgewiesen werden konnten, zeigen bei LA-MRSA ST398 im Regelfall in absteigender Reihenfolge die SCCmec-Typen V, IV (a und b) sowie III (Alt et al., 2011; Battisti et al., 2010; Crombe et al., 2012; Morcillo et al., 2012; Tenhagen et al., 2009; van Duijkeren et al., 2008). Im Rahmen der Studien die zu LA-MRSA beim Schwein bisher durchgeführt wurden, trat vermehrt die Frage nach dem Zusammenhang von Antibiotikaeinsatz, Hygienemanagement und Verbreitung von MRSA innerhalb der Schweinepopulation auf. Es wurde in diesem Zusammenhang ein Einfluss von Antibiotikaeinsatz und MRSA-Auftreten herausgearbeitet. So ließ sich zeigen, dass der Einsatz von antibiotischen Wirkstoffen mit MRSA-Besiedlung zusammenhängen kann bzw. stark vermutet wird (Brockers, 2011; Meyer, 2011). So ist der Gebrauch von mehreren Wirkstoffen mit dem Auftreten von MRSA-positiven Tieren verbunden (Brockers, 2011). Es gibt allerdings auch gegensätzliche Ergebnisse, so konnte in einer Studie kein direkter Zusammenhang zwischen positiven MRSA-Nachweisen und dem Antibiotikaeinsatz hergestellt werden (Heine, 2011). Die Quellen zeigen jedoch hinsichtlich der Antibiotikaresistenzen der porcinen MRSA-Isolate ein sehr einheitliches Ergebnis. Resistenzen gegenüber Tetrazyklinen sind zu 100 % ausgebildet, dicht gefolgt von Trimethoprim/Sulfametaxazole, Erythromycin, Ciprofloxacin, Gentamycin und weiteren Wirkstoffen (Alt et al., 2011; Battisti et al., 2010; Frick, 2010; Guardabassi et al., 2007; Tenhagen et al., 2009; van Duijkeren et al., 2008). Das Betriebsmanagement spielt eine gewisse Rolle bzgl. der Verbreitung von MRSA (Alt et al., 2011). Es scheint eine Abhängigkeit von der Betriebsgröße und dem Auftreten von MRSA zu geben. Die größeren Schweinebetriebe (die Grenze kann hier basierend auf der vorliegenden Literatur bei ca. 1000 Tieren gezogen werden) scheinen deutlich häufiger positive Nachweise zu liefern als kleine

Literaturübersicht

Betriebe (Alt et al., 2011; Broens et al., 2011; Heine, 2011). Neben der Bestandsgröße wird auch der Unterschied zwischen offenem und geschlossenem System thematisiert. Man gelangt in der Literatur zu dem Schluss, dass ein geschlossenes System sich protektiv auf die Schweinepopulation auswirkt und das Risiko MRSA z.B. einzuschleppen stark sinkt, ebenso die Begrenzung der Aufzuchtquellen von mehreren auf weniger Aufzuchtstationen (Brockers, 2011; Heine, 2011). Die höchste Prävalenz konnte in einer belgischen Studie bei offenen Systemen beobachtet werden (Crombe et al., 2012). Betrachtet man die unterschiedlichen Altersgruppen der Schweine unter dem Gesichtspunkt der MRSA-Verbreitung kommt die Fachliteratur zu unterschiedlichen Resultaten. In der Untersuchung von 285 Schweinen auf 20 kanadischen Farmen konnte keinerlei Unterschied in der MRSA-Kolonisierung bzgl. der Altersgruppen festgestellt werden (Khanna et al., 2008). In Studien aus Deutschland jedoch lässt sich erkennen, dass Unterschiede sehr wohl bestehen können. Eine Untersuchung bayrischer Bestände wies MRSA bei 37,6 % der Ferkel, 35,6 % der Endmasttiere, jedoch nur bei 23,9 % der Sauen nach (Frick, 2010). Absetzer wiesen in einer weiteren Studie, in welcher unter anderem verschiedene Schweinealtersklassen beprobt wurden, mit Abstand die höchste MRSA-Prävalenz auf (Pletinckx et al., 2013). MRSA-kolonisierte Sauen stehen im Verdacht die Anzahl wiederum kolonisierter Ferkel stark zu erhöhen (Moodley et al., 2011; Nathaus et al., 2010). Doch auch die Stallumgebung spielt eine Rolle (Brockers, 2011). Bei MRSA-negativem Tierbestand ist auch der Umgebungstaub negativ. Des Weiteren ist eine erfolgreiche Dekolonisation des Betriebes durch Entfernen der positiven Tiere mit anschließender gründlicher Reinigung und Desinfektion erfolgsversprechend (Sunde et al., 2011). Ebenfalls der Wechsel hin zu einem neuen Stallgebäude und der Bezug von Tieren von einem anderen Händler wirken sich unter Umständen erfolgreich aus (Brockers, 2011). Betrachtet man das Auftreten von MRSA in deutschen Schweinebetrieben generell, so schwankt die Prävalenz in einem relativ weiten Feld von 18 % bis zu über 70 % (Alt et al., 2011; Brockers, 2011; Frick, 2010; Heine, 2011; Kock et al., 2009; Meemken et al., 2008; Meyer, 2011). Es sollte hierbei aber bedacht werden, dass es sich um untereinander z.T. stark unterscheidende Studienmodelle handelt. Nicht nur das Auftreten von MRSA in Schweinehaltungen, sondern auch das Einschleppen des Bakteriums in Schlachthöfe war und ist Gegenstand der aktuellen Forschung. Im Rahmen einer deutschen Studie, welche sich über fünf Schlachthöfe erstreckte, konnten bei bis zu 70,9 % der angelieferten Schweine eine nasale Besiedlung mit MRSA ST398 nachgewiesen werden (Tenhagen et al., 2009). Zu einem vergleichbar hohen Ergebnis gelangten auch Untersuchungen des MRSA-Status auf einem Schlachthof auf Teneriffa. Hier entnahm man von 300 angelieferten Schweinen verschiedener

Zulieferer Nasenproben und stellte in über 85 % der Tiere eine Besiedlung mit MRSA ST398 fest (Morcillo et al., 2012).

Insgesamt betrachtet scheint die Schweinehaltung ein definitives Reservoir für MRSA darzustellen. Vor allem die z.T. sehr stark ausgeprägten Antibiotikaresistenzen in verschiedenen Wirkstoffgruppen geben Anlass zu weiteren Nachforschungen.

2.2.4.6 MRSA im Stallstaub

Im Stallstaub verbinden sich meist organische Feststoffpartikel mit Luft zu einem Gemisch. Stallstaubquellen sind innerhalb der Betriebe bzw. Stallungen zum Beispiel Einstreu, Futter, Ausscheidungen der Tiere, Pilzsporen, diverse Pollen und natürlich Mikroorganismen (Krieter, 2006). Problematisch ist hier die bakterielle Kontamination des Staubes. Er erlangt in diesem Zusammenhang wesentliche tierhygienische Bedeutung als Trägerelement und Nährstofflieferant für Mikroorganismen (Krieter, 2006). *S. aureus* stellt innerhalb der Keimflora in der Schweinestallluft einen Hauptanteil von 60 % gegenüber Streptokokken, Pilzen u.a. (Hartung 2005). Es ist in der jüngeren Vergangenheit angestrebt worden die Verbreitung von MRSA in der Umgebung der Tiere zu ergründen. Bei der Untersuchung von Staubproben aus neun Schweinehaltungen auf MRSA und MSSA wurden 43 MRSA in den Proben von fünf Stallungen isoliert (Wagenaar et al., 2009). Ferner wiesen mittels Umgebungsproben Broens et al (2011) in einer Übersichtsstudie von 202 Schweineherden in circa 70 % der untersuchten Herden MRSA nach. Die Arbeitsgruppe hatte pro Schweineherde fünf Umgebungsproben entnommen und diese einzeln untersucht (Broens et al., 2011). Regelmäßig konnte in ähnlichen Studien MRSA aus Staub isoliert werden (Alt et al., 2011; Broens et al., 2011; Sunde et al., 2011). Hierbei wurde allerdings festgestellt, dass zum Beispiel im Falle eines Stallgebäudes mit MRSA-negativer Tierpopulation auch kein MRSA in Staubproben gefunden werden konnte (Sunde et al., 2011). Im Rahmen einer Untersuchung der möglichen Verbreitungswege von MRSA in der Tierproduktion konnten MRSA in der Luft von 85 % (n=27) Schweinestallungen isoliert und in über 55 % der Sockentupferproben nachgewiesen werden (Friese et al., 2012). Die Verbreitung von MRSA beschränkt sich hierbei jedoch nicht nur auf die Stallgebäude selbst. So konnten durch Forschungsarbeiten in Ohio und Texas (USA) MRSA auch in der äußeren Umgebung von Schweinestallungen gefunden werden (Gibbs et al., 2006; Green et al., 2006). Bis zu einer Entfernung von 150 Metern traten erhöhte Konzentrationen antibiotikaresistenter Bakterien in der Umgebung auf. Der Keimgehalt antibiotika-resistenter *S. aureus* nahm aber mit zunehmender Entfernung zum Stallgebäude ab (Gibbs et al., 2006). Insgesamt stellte *S. aureus* 76 % der Mikroorganismen

(Green et al., 2006). Es liegt die Vermutung nahe, dass die Möglichkeit einer Luftübertragung von MRSA innerhalb von Schweineherden besteht (Friese et al., 2012).

2.2.4.7 MRSA bei beruflich exponierten Personen

Veterinärmediziner verschiedener Fachgebiete (Nutztier-/Kleintier-/Pferdepraxis), Landwirte und auch Veterinärmedizinstudenten sind generell und auch im Vergleich zur Normalbevölkerung, einem höherem Risiko ausgesetzt MRSA zu akquirieren (Anderson et al., 2008; Burstiner et al., 2010; Frana et al., 2013; Jordan et al., 2011; Moodley et al., 2008; Witte et al., 2007b; Wulf et al., 2008). Es gibt diverse Untersuchungen zur Verbreitung von MRSA unter Tierärzten und landwirtschaftlichem Fachpersonal, welche auf der Akquirierung von Nasentupferproben beruhen und auf Kongressen und Tagungen durchgeführt wurden. Im Rahmen dieser Untersuchungen lassen sich die folgende Schlüsse ziehen. Im Bereich der Großtiere beschäftigte Personen waren deutlich häufiger MRSA-positiv als Personen welche im Kleintiersektor tätig sind (Hanselman et al., 2006). Im Gegensatz hierzu wiesen Amtsveterinäre und in der Industrie angestellte Tierärzte die niedrigsten Prävalenzen auf (Jordan et al., 2011). Pferdepraktiker stachen mit vergleichsweise hohen Nachweisraten aus den Untersuchungen hervor. Die Prävalenzen lagen zwischen 10,1 % (26/257 Personen) in der einen Studie bis zu 21,4 % bezogen auf Pferdepraktiker in einer weiteren Studie (Anderson et al., 2008; Jordan et al., 2011). Kleintierpraktiker wiesen die niedrigste Prävalenz auf (Hanselman et al., 2006; Jordan et al., 2011). Da auch Veterinärmedizinstudenten in regelmäßigem Tierkontakt stehen und eine Übertragung von MRSA von vor allem Schweinen auf die Studenten nicht ausgeschlossen werden kann, fanden in der jüngeren Vergangenheit Untersuchungen zum Expositionsrisiko für MRSA statt. In den Niederlanden konnte eine Prävalenz von 4,6 % (n=179) unter Veterinären und Studenten nachgewiesen werden (Wulf et al., 2006). Da Studenten häufig im Rahmen ihres Studiums Betriebe nur kurzfristig besuchen, wurden Studenten vor und nach dem Besuch MRSA-positiver Schweinebetriebe auf ihren MRSA-Status hin überprüft. Hierbei stellte man fest, dass 22 % (n=30) der Studenten nach Bestandsbesuch MRSA-Trägerschaft erworben hatten, allerdings 24h später in einer Kontrolle MRSA-negativ waren (Frana et al., 2013). Eine ähnliche Studie konnte in den Niederlanden bei Landarbeitern ohne regelmäßigen Schweinekontakt durchgeführt werden. Ihr MRSA-Status wurde vor und nach Besuch MRSA-positiver Bestände überprüft. 17 % (n=118) der Bestandsbesuche führte zu einem positiven Nachweis von MRSA, die allerdings 24h später bei 94 % der betroffenen Personen wieder negativ ausfiel (van Cleef et al., 2011). Schweinebauern selbst sind ebenfalls relativ häufig mit MRSA assoziiert. In einer

amerikanischen Studie zum Beispiel wurde bei 45 % (n=20) der Landarbeiter ein positiver MRSA-Nachweis erbracht (Smith et al., 2009). Hierbei können Hauterkrankungen bei Landwirten und Personal in direkten Zusammenhang mit Schweinehaltung gebracht werden (Lozano et al., 2011a; Lozano et al., 2011b). Auch auf Schlachthöfen besteht für das Schlachtpersonal ein deutlich erhöhtes Risiko MRSA-Trägerschaft zu erwerben. Ein besonderes Risiko scheint auf dem Schlachthof für Personal am Beginn der Schlachtkette zu existieren und bei Fortschreiten des technischen Schlachtverlaufs entscheidend abzunehmen (Gilbert et al., 2012). Als maßgeblicher Risikofaktor wurde der Kontakt zu noch lebenden Schweinen identifiziert (Van Cleef et al., 2010). Dieser Risikobereich wurde durch eine aktuelle Studie auf den Auslaufbereich, die Brühanlage und die Enthaarungsprozesse eingegrenzt (Gilbert et al., 2012). Die meisten in diversen Studien isolierten MRSA gehörten zu LA-MRSA ST398 (Gilbert et al., 2012; Morcillo et al., 2012).

Besonders besorgniserregend sind aktuelle Studien zur Wirksamkeit von Dekolonisationsmaßnahmen beim Menschen zur Bekämpfung MRSA-bedingter Infektionen. Es gibt erste Hinweise darauf, dass die Effizienz und Effektivität nasaler Dekolonisationsprogramme bei Menschen mit regelmäßigem, engerem Schweinekontakt nicht gegeben ist (Lozano et al., 2011b). Die Behandlung mit Mupirocin und auch Fusidin Säure kann in Personen mit engem Kontakt zu Schweinen wenig erfolgsversprechend sein (Lozano et al., 2011a; Lozano et al., 2011b). Hinsichtlich der Verbreitung bzw. Übertragbarkeit von LA-MRSA ST398, stellte eine niederländische Forschergruppe fest, LA-MRSA ST398 sei deutlich (bis zu 5,9 fach) weniger übertragbar als MRSA-Stämme in Krankenhäusern (Bootsma et al., 2011).

2.3 Nachweismethoden für MRSA

2.3.1 Kultureller Nachweis

Das Vorgehen beim kulturellen Nachweis von MRSA unterscheidet sich im Prinzip nicht vom Nachweis nicht Methicillin-resistenter *S. aureus*. Es existieren auf dem Markt mehrere Selektiv-Wachstumsmedien. Sie nutzen die Methicillinresistenz von MRSA und die im Gegensatz hierzu stehende Sensitivität von MSSA und anderen Keimen aus. Das Untersuchungsmaterial kann im Direktausstrich und auch nach Vorkultivierung auf dem Selektivmedium ausgestrichen werden. Durch den Zusatz von Oxacillin ist die Einteilung in Oxacillin-sensible und Oxacillin-resistente *S. aureus* (MRSA) möglich, da Wachstum von Begleitkeimen und auch von MSSA hierdurch unterbunden wird (Diederer et al., 2005;

Literaturübersicht

Merlino et al., 2000). Die Identifikation gelingt hier über die Beurteilung der Koloniepigmentierung auf dem chromogenen Medium (Merlino et al., 2000). In einer Übersichtsstudie über die Effektivität verschiedener Selektivmedien für MRSA wurden fünf chromogene Medien getestet und hiervon der BBL-CHROMagar im Hinblick auf Sensivität und Spezifität als bester bewertet (Malhotra-Kumar et al., 2010). MRSA bilden nach 24 Stunden Bebrütung bei 37 °C im Brutschrank auf dem BBL-CHROMagar (BD) pink bis malvenfarbene Kolonien. Neben den angesprochenen chromogenen Selektivmedien kann ein Agardiffusionstest zur phänotypischen Resistenzbestimmung der MRSA-verdächtigen Proben durchgeführt werden. Hierzu sind als Testsubstanzen Oxacillin-Hemmstoffplättchen oder Cefoxitin-Hemmstoffplättchen nutzbar. Die Durchmesser der Hemmhöfe können nach EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) klassifiziert werden. Cefoxitin wird hierbei Oxacillin der Vorzug gegeben (John et al., 2009). Oxacillin-Tests können dem Ergebnis einer einzelnen älteren Studie nach unter bestimmten Bedingungen unzuverlässig sein (Mackenzie et al., 1995).

2.3.2 Nachweis des *mecA*-Gens

Es besteht die Möglichkeit mittels der Polymerase-Kettenreaktion (PCR, polymerase chain reaction) MRSA-verdächtige Isolate und auch klinische Materialproben auf das Vorhandensein des *mecA*-Gens zu untersuchen (Huletsky et al., 2004; Poulsen et al., 2003). Zwei Methoden finden hierbei Anwendung. Zum einen kann die Real-time PCR (RT-PCR) angewandt werden, wobei der *mecA*-Nachweis direkt mit dem Nachweis des *S. aureus* spezifischen *orfX*-Gens verbunden wird, somit also zeitgleich die Spezies und die Methicillin-Resistenz feststehen (Huletsky et al., 2004). Zum anderen steht eine Multiplex-PCR zur Verfügung. Hierbei werden gleich drei Gene überprüft, das *mecA*-Gen, das *S. aureus* spezifische *nuc*-Gen und das *16S rRNA*-Gen. Somit kann eine Einteilung in MRSA (alle drei Gene nachgewiesen), MSSA (nicht vorliegen von *mecA*) und von *Staphylococcus* spp. (folglich nur 16S positiv) getroffen werden (Poulsen et al., 2003). Dies erhöht die Sicherheit des Nachweises, da auch Koagulase-negative Staphylokokken (KNS) das *mecA*-Gen tragen können (Maes et al., 2002).

2.4 Typisierungsverfahren

2.4.1 Pulsfeldgelelektrophorese

In diesem Verfahren wird das Bakterien-Genom durch ein Enzym in einzelne Fragmente zerteilt. Diese einzelnen Fragmente werden im Anschluss an den vorausgegangenen

Verdauungsschritt über Gel-Elektrophorese sichtbar gemacht. Anhand der entstehenden Bandenmuster können genetische Unterschiede der zu untersuchenden Isolate abgelesen und Zusammenhänge zwischen mehreren Isolaten erkannt werden (Schwartz and Cantor, 1984). Zur Typisierung von MRSA gilt die PFGE immer noch als Gold-Standard-Methode (Bens et al., 2006; Murchan et al., 2003). Bei *S. aureus* wird das Enzym SmaI als Standard eingesetzt (Bens et al., 2006). Problematisch ist allerdings die Tatsache, dass sich nutztierassoziierte MRSA nicht erfolgreich mit SmaI bearbeiten lassen. Dies ist auf eine Methylierung der Zielsequenz von SmaI zurückzuführen, das heißt SmaI kann diese nicht mehr erkennen und infolge dessen nicht wirksam werden. Solche MRSA werden auch als non-typeable MRSA (NT-MRSA) bezeichnet (Argudin et al., 2010a; Bens et al., 2006). Diese NT-MRSA können durch andere Enzyme (Cfr9I, ApaI) bearbeitet werden (Bosch et al., 2010; Kadlec et al., 2009; Rasschaert et al., 2009). Die meisten NT-MRSA gehören zu ST398 (Bosch et al., 2010). Cfr9I ist ein Neoschizomer von SmaI und kann zur Untersuchung von ST398 erfolgreich herangezogen werden (Argudin et al., 2010a; Argudin et al., 2010b; Bosch et al., 2010).

2.4.2 Multi Locus Sequence Typing

Diese Methode zur Typisierung von MRSA-Isolaten beruht auf sogenannten Housekeeping-Genen. Diese Housekeeping-Gene, sieben Stück an der Zahl (*arcC*, *aroE*, *glpF*, *gmk*, *pta*, *tpi* und *yqiL*), werden in voneinander getrennten Ansätzen per PCR amplifiziert und hiernach sequenziert (Enright et al., 2000). Man kann nun durch den Abgleich der Allelprofile jedes MRSA-Isolat einem bestimmten Sequenztyp (ST) zuordnen, z.B. ST398, ST9, ST5 u.v.m. Zusätzlich werden klonale Gruppen (Clonal Complexes, CCs) verwandter Sequencetypen über einen Algorithmus erstellt (www.eburst.mlst.net). Eine Internetdatenbank (www.mlst.net) erlaubt den Abgleich und Vergleich der untersuchten Isolate. Die Datenbank gestattet den weltweiten Austausch gewonnener Daten und ermöglicht eine Kontrolle der Veränderung und Ausbreitung der MRSA.

2.4.3 Spa-Typisierung

Die Spa-Typisierungsmethode ist eine einfach und unkompliziert durchzuführende Methode, welche eindeutige, reproduzierbare und gut zu interpretierende Resultate liefert (Oliveira et al., 2001). Sie stellt eine weitverbreitete Untersuchungsmethode zur Abklärung epidemiologischer Ursprünge von MRSA-Isolaten dar (Hasman et al., 2010). Das Prinzip beruht auf dem Polymorphismus der Region X des Gens *spa*, welches für das Protein A codiert. Das Gen trägt an seinem 3'-Ende eine „Repeat-Region“, die eine variable Abfolge

Literaturübersicht

von 24 Basenpaaren enthält. Mittels PCR wird die Region X amplifiziert und sequenziert und kann einem spa-Typ zugeordnet werden (Frenay et al., 1996). Durch Duplikation, Deletion und Punktmutationen erklärt sich die hohe Variationsbreite des spa-Gens (Kahl et al., 2005). Die über die Spa-Typisierung gewonnenen Daten lassen sich mit zum Beispiel den MLST-Typen in Verbindung bringen. So können im Rahmen des BURP (based upon repeat patterns)-Algorithmus gebildete spa-Gruppierungen mit dem MLST (96,5 %) und der PFGE (94,9 %) in hohem Maße Übereinstimmung finden (Mellmann et al., 2008). Einem einzelnen Multi Locus Sequence Typ zum Beispiel ST398 kann hierbei mehrere spa-Typen zugeordnet werden, t011, t034, t108 und t1254 (de Neeling et al., 2007; van Loo et al., 2007). Es besteht die Möglichkeit im Internet (www.spaserver.ridom.de) anhand einer offenen Datenbank die Ergebnisse der spa-Typisierung zu vergleichen.

2.4.4 SCCmec-Typisierung

Das für die Methicillin-Resistenz verantwortliche *mecA*-Gen ist in einer DNA-Kassette enthalten, die als „staphylococcal cassette chromosome mec“ (SCCmec) bezeichnet wird. Es enthält neben *mecA* auch „cassette chromosome recombinase“-Gene (*ccrA* und *ccrB*). Die Rekombinase-Gene zeichnen verantwortlich für die Exzision und Integration aus bzw. in das *S. aureus*-Chromosom (Ito et al., 2001; Katayama et al., 2000). Die Einteilung erfolgt derzeit in mehrere Klassen (I, II, III, IV, V) mit zum Teil jeweils Subgruppierungen. Durch die Analyse der Kombinationen von Rekombinase-Genen (*ccR*) und *mec*, dominiert in seinem Aufbau von *mecRI* und *mecI*, erfolgt die Einteilung in die oben genannten Klassen (Shore et al., 2005). Die Klassen wiederum können in Verbindung gebracht werden mit den verschiedenen Einteilungen der MRSA in HA-/CA-/ und LA-MRSA. SCCmec I-III sind mehrheitlich verknüpft mit HA-MRSA, SCCmec IV/V hingegen mit CA-MRSA und SCCmec III/IVa/V sind am häufigsten bei LA-MRSA (ST398) zu finden (Cohn and Middleton, 2010; Daum et al., 2002; de Neeling et al., 2007; Huijsdens et al., 2009).

2.5 Die Resistenzen von MRSA

2.5.1 Historischer Überblick

Um die Entwicklung der Antibiotikaresistenz von *S. aureus* besser zu verstehen ist ein Blick auf die Entwicklung der Antibiotika selbst hilfreich.

Die Entdeckung der antibiotischen Wirkung von Schimmelpilzen liegt deutlich über 100 Jahre zurück. So entdeckte der französische Medizinstudent Ernest Duchesne (1874-1912) die

Wirkung von *Penicillium* 1896. Er hatte arabische Stalljungen verschimmelte Sättel auf wunde Pferderücken auflegen sehen und beobachtete eine stark verbesserte Wundheilung der aufgeschürften Auflagestellen der Sättel. Duchesne reichte seine Arbeiten als Dissertation ein, wurde allerdings aufgrund seiner Jugend und Armut nicht beachtet. Alexander Fleming (1881-1955) entdeckte, wie weiter oben schon beschrieben, die Wirkung von *Penicillium* neu, fand aber ebenfalls kaum Beachtung. Erst Howard Florey (1898-1968) und Ernst Chain (1906-1979) bearbeiteten Flemings Werk und reinigten Penicillin auf. Sie applizierten Penicillin Mäusen, welche sie zuvor mit Staphylokokken infiziert hatten und stellten eine stark gesteigerte Überlebensrate der Tiere fest. Mitte der 30er-Jahre kam es zur Entwicklung der Sulfonamide durch den deutschen Arzt Gerhard Domagk (1895-1964). Es gelang ihm durch gezielte Forschungsarbeiten das Leben seiner eigenen Tochter mit dem neuen Wirkstoff (antibiotische Wirkung des Sulfonamidfarbstoffes Prontosil) zu retten. Nahezu zeitgleich erfolgte die Entdeckung des Streptomycins durch Selman Waksman (1888-1973). Seit dieser frühen Epoche hat die Suche nach immer neuen Antibiotika und Wirkstoffen, aufgrund der stetig zunehmenden Wirkstoffresistenzen der Bakterien, keinen Abriss gefunden.

2.5.2 Resistenz gegenüber β -Laktam-Antibiotika

Die große Gruppe der β -Laktam-Antibiotika teilt sich in Penicilline, Cephalosporine und die nur in der Humanmedizin eingesetzten Carbapeneme auf. Sie inhibieren das Endstadium der Peptidoglycansynthese, wodurch sie die Produktion des Zellwandbausteins Murein unterbinden. β -Laktame binden an Penicillin bindende Proteine (PBPs), welche für den Mureinaufbau verantwortlich sind, aber auch eine Rolle bei der Septumbildung bei der Teilung einnehmen. Resistenzen beruhen auf mehreren Abwehrmechanismen. Zum einen sind Bakterien unter hohem Selektionsdruck in der Lage, die für die Zellwandpassage notwendigen Porene zu modifizieren und so den Zufluss von β -Laktamen zu begrenzen. Zusätzlich werden Enzyme synthetisiert, die den Lactamring der Antibiotika als Ziel haben, sie werden als β -Laktamasen bezeichnet (Penicillinasen, Cephalosporinasen, Carbapenemasen) (Löscher, 2010). Resistenzgene, welche für die auftretende β -Laktam-Resistenz codieren, sind über das Chiffre „*bla*“ abgekürzt. Drei Gene sind verantwortlich für die Resistenz. Das Gen *bla_Z* codiert für β -Laktamasen. Es kann sowohl auf Plasmiden als auch auf dem Chromosom lokalisiert werden (Bagcigil et al., 2012; Lyon and Skurray, 1987). Daneben treten das *bla_I*, ein Genrepressorprotein, und *bla_R*, ein Regulatorgen für die Signaltransduktion, auf. Kommt es zum Kontakt mit β -Laktamen, erfolgt eine Acylierung der Sensordomäne von *bla_R*, welche

ihrerseits über eine Zinkprotease *BlaI* erniedrigt. Durch Herabsetzen von *BlaI* kommt es rasch zur Transkription und zum Aufbau der Resistenz (Llarrull et al., 2010; Llarrull et al., 2011).

2.5.3 Resistenz gegenüber nicht β -Laktam-Antibiotika

2.5.3.1 Tetrazykline

Tetrazykline wirken über eine Hemmung der Proteinbiosynthese und haben hierdurch einen bakteriostatischen Effekt. In der Bakterienzelle, welche durch Tetrazyklin passiv über Porin-Proteine invasiert wurde, binden sie an die 30S Untereinheit der Ribosomen. Dadurch entsteht eine Hemmung der Bindung der Aminoacyl-t-RNA an die Akzeptorregion der Ribosomen. Resistenzen werden durch Plasmide vermittelt. Zum einen tritt eine Herabsetzung der Penetrierbarkeit der bakteriellen Zellwand auf, zum anderen etablieren sich in der Bakterienzelle Transportsysteme die aktiv zur Ausschleusung von Tetrazyklinen führen (Löscher, 2010). Die Resistenzgene, welche für die Tetrazyklinresistenz codieren, sind zahlreich (*tetK*, *tetM*, *tetEfflux*, *tetL*, *tetO*, *tetG* uvm.). Sie werden allgemein als „*tet*“ für Tetrazyklin bezeichnet. So wird die Resistenz zum Beispiel über die chromosomale Integration *tetK* tragender Plasmide vermittelt (Gillespie et al., 1986). Auch die Möglichkeit der Co-Selektion mit anderen Resistenzgenen besteht, nachgewiesen ist dies z.B. für *tetL* (Kadlec and Schwarz, 2009). Die Resistenz ist häufig an das Auftreten von Zweier- oder sogar Dreiergenpaaren gebunden, d.h. *tetK/tetM* oder auch *tetK/tetL/tetM* treten gekoppelt auf. Manche von ihnen sind mit Plasmiden, andere mit Transposons assoziiert (Kadlec et al., 2009). So fanden sich in der Untersuchung von knapp unter 200 MRSA-Isolaten aus einem einzelnen Krankenhaus in allen Tetrazyklin-resistenten Isolaten die Gene *tetK* (21 %; n=39) und *tetM* (49 %; n=92) (Lim et al., 2012).

2.5.3.2 Chinolone

Zu den Chinolonen zählen zum Beispiel die in der Humanmedizin eingesetzten Wirkstoffe Moxifloxacin, Ciprofloxacin und Levofloxacin. In der Veterinärmedizin sind Wirkstoffe wie Enrofloxacin, Marbofloxacin und Danofloxacin verbreitet. Sie alle haben als Angriffsstelle die bakterielle Gyrase. Das Enzym Gyrase ist eine bakterielle Topoisomerase II. Es spaltet die Zucker-Phosphat-Bindung beider DNA-Stränge und im Anschluss die Wiederverbindung beider und eine Überspiralisierung („super-coiling“) der DNA-Doppelhelix. Das „super-coiling“ ist essentiell für den geregelten Ablauf der DNA-Replikation, Transkription und Reparatur. Die Wirkstoffe binden an die A-Untereinheit des Enzyms Gyrase und blockieren somit den DNA-Wiederverschluss. Resistenzen beruhen auf einer herabgesetzten Affinität der

Gyrase oder einer Verminderung der Permeabilität der bakteriellen Zellwand für die Wirkstoffe (Löscher, 2010). Für die Erniedrigung der Topoisomerase II-Affinität („Gyrase“) sind Mutationen an den Genen *gyrA* und *gyrB* verantwortlich, welche die Aminosäuresequenz des Enzyms geringfügig abändern (Starke, 2009).

2.5.3.3 Aminoglykoside

Aminoglykoside, zu denen die Wirkstoffe Gentamicin, Kanamicin, Neomicin und weitere zählen, sind primär bakterizid wirksame Antibiotika. Sie entfalten ihre Wirkung durch Bindung an die 30S Untereinheit des bakteriellen Ribosoms. Jedoch wird die Proteinsynthese nicht unterbunden, sondern es kommt zur Fehlsteuerung derselben. Das Resultat sind sogenannte „non-sense proteins“. Der Transport von Aminoglykosiden in die Bakterienzelle hinein beruht auf Passage der Zellwand mittels Porinen, aber auch durch direkte Penetration der Zellwand. Hier setzt auch der Resistenzmechanismus an. Durch Aufnahme von R-Faktoren wird eine Resistenz vermittelt. Es werden Adenyltransferasen (AAD), Acetyltransferasen (AAC) und Phosphotransferasen (APH) gebildet, die den Transport in die Zelle hinein begrenzen und an verschiedenen Stellen der Wirkstoffe ansetzen können (Löscher, 2010; Starke, 2009). Das Auftreten von Kreuzresistenzen innerhalb der Gruppe der Aminoglykoside ist möglich, lediglich Amikacin, welches in der Humanmedizin als Reserveantibiotikum strikt gehandhabt wird, zeichnet sich durch Wirksamkeit bei fortgeschrittener Aminoglykosidresistenz (v.a. bei Gentamycinresistenz) aus (Starke, 2009; Tacconelli, 2012). Resistenz gegenüber verschiedenen Wirkstoffen der Aminoglykosid-Gruppe wird durch *aadD* (Adenyltransferase), *aphA3* (Phosphotransferase), *aacA-aphD* (bifunktionale Enzyme) vermittelt (Argudin et al., 2012; Fessler et al., 2010). Eine weitere Resistenzmöglichkeit stellt eine Zellwandverdickung dar. Sie ist bei klinischen MRSA-Isolaten mit einer adaptiven Resistenz gegenüber Amikacin verbunden (Yuan et al., 2013).

2.5.3.4 Sulfonamide

Für das Wachstum von Bakterien ist die Folsäuresynthese essentiell. Sulfonamide greifen hier an durch kompetitive Substratkonkurrenz zur p-Aminobenzosäure (PABA) an der Dihydropteroinsäure-Synthetase. Es resultiert eine Synthesehemmung der bakteriellen Folsäure. Sulfonamide sind vom Wirktypus bakteriostatisch. Das Wirkspektrum ist sehr breit gefächert, allerdings ist eine große Anzahl von Bakterien in ihrer Empfindlichkeit gemindert bis vollkommen resistent. Eine einmal herausgebildete Wirkstoffresistenz ist hierbei irreversibel. Daher wird in der Therapie eine Kombination aus Sulfonamid mit Trimethoprim

Literaturübersicht

angestrebt. Trimethoprim hemmt die bakterielle Nukleinsäuresynthese. Durch die Kombination kommt es zum Synergismus der beiden Wirkstoffe, auch als Sequentialeffekt bezeichnet, wobei auch hier eine ungünstige Resistenzlage vorherrscht (Löscher, 2010). Das Gen *dfrK* vermittelt Trimethoprim-Resistenz. *DfrK* wurde als Teil eines Genclusters gemeinsam mit *ermT* und *tetL* auf dem Plasmid pKKS25 identifiziert. Dieser Gencluster, welche weitreichende Resistenzen gegenüber in der Tiermedizin häufig eingesetzte Antibiotika vermittelt, wurde bei einem MRSA ST398 Stamm porcinen Ursprungs nachgewiesen (Kadlec and Schwarz, 2009). In einer Studie zu MRSA im Zusammenhang mit boviner Mastitis konnte ebenfalls ein direkter Zusammenhang von *dfrK* mit *tetL* hergestellt werden. Alle *tetL* positiven Isolate trugen auch *dfrK* und wiesen hohe MICs gegenüber Trimethoprim auf (Fessler et al., 2010). Auch bei MRSA aus postoperativen Infektionen beim Pferd konnte die Trimethoprim-Resistenz auf das Vorhandensein von *dfrK* zurückgeführt und ein weiteres Gen *dfrA* in sog. „borderline-oxacillin-resistant *S. aureus*“ (BORSA) identifiziert werden (Sieber et al., 2011). In der Humanmedizin wird Trimethoprim in steigendem Maße zur Behandlung von Haut- und Weichteilinfektionen im Zusammenhang mit CA-MRSA genutzt (Wood et al., 2012).

2.5.3.5 Makrolide

Die 50S Untereinheit der bakteriellen 70S-Ribosomen stellt den Ansatzpunkt für die Wirkung der Makrolide dar. Die Proteinsynthese wird durch kovalente Bindung an Proteine des Peptidyltransferasezentrums gestört. Hierdurch wird die Translokation der Peptidyl-t-RNA von der Akzeptor- zur Donorstelle gestört. Resistenzen gegen diesen Wirkmechanismus können sich zügig entwickeln (Übertragung durch Plasmide) und umfassen eine enzymbasierende Methylierung (RNA-Methylasen) der Andockstelle am Ribosom, welches nun unangreifbar wird. Desweiteren erfolgt eine Ausschleusung aus der Bakterienzelle und eine enzymatische Spaltung des Lactonringes. Problematisch ist die sogenannte MLS-Resistenz, d.h. es wird parallel eine Macrolid/Lincosamid/Streptogramin-Resistenz erworben (Löscher, 2010). In der Tiermedizin ist Erythromycin als Wirkstoff weitverbreitet. Es gibt im Prinzip zwei Möglichkeiten der Makrolidresistenz. Zum einen kann das *msrA*-Gen für einen Effluxmechanismus codieren (ABC Transporter), zum anderen besteht die Möglichkeit über *erm*-Gene (*ermA/ermB/ermC* etc.) Enzyme zu synthetisieren, die Resistenzen gegenüber MLSb Antibiotika hervorrufen (Prabhu et al., 2011; Vandendriessche et al., 2011). Als ebenfalls Erythromycin-Resistenz vermittelnde Gene sind *mef (A)* bei z.B. *S. aureus* bekannt (Luna et al., 2002; Zmantar et al., 2008). *Mef* codiert für ein Makrolid-Efflux-Protein. In

Belgien wurden MRSA-Isolate aus 109 Krankenhäusern auf das Vorhandensein von Macrolid-Lincosamid Resistenzen (ML-Resistenzen) untersucht. In 50 % der MRSA-Isolate (n=157) konnte eine Erythromycin-Resistenz festgestellt und der Nachweis von *ermA* (n=112), *ermC* (n=41) und *msrA* (n=1) erbracht werden (Vandendriessche et al., 2011). In einer Untersuchung von 188 MRSA-Isolaten aus einem Krankenhaus in Malaysia wurde die Erythromycin-Resistenz eindeutig mit dem Vorhandensein von *ermA* und/oder *ermC* in Verbindung gebracht. In 84 % (n=157) der Isolate wurde *ermA*, *ermC* in 21 % (n=40) und *msrA* in 2 % (n=4) nachgewiesen (Lim et al., 2012). Makrolidresistenzen scheinen in der Humanmedizin insgesamt weitreichend verbreitet zu sein.

2.5.3.6 Glykopeptide

Die Glykopeptidantibiotika hemmen den bakteriellen Zellwandaufbau bei gram-positiven Bakterien. Sie wirken über Bindung an die Bausteine zur Quervernetzung der Zellwand und machen diese hierdurch unbrauchbar. Zu den Glykopeptiden gehören die in der Humanmedizin als Reserveantibiotika geführten Wirkstoffe Teicoplanin und Vancomycin. Sie werden zur Behandlung von MRSA empfohlen (Tacconelli, 2012). Die Mechanismen der Glykopeptidresistenz sind leicht unterschiedlich. Es können zwei Möglichkeiten unterschieden werden. Zum einen kann eine stark verdickte Zellwand in direkten Zusammenhang mit Vancomycin und auch Teicoplanin-Resistenz gebracht werden (Cui et al., 2003). Neben dem Abwehrmechanismus einer Zellwandverdickung resultieren die Gene *vanA*, *vanB* und *vanZ* in einer Glykopeptidresistenz. Sogenannte VRSA (Vancomycin-resistente *S. aureus*) verfügen über das *vanA*-Operon, welches mit extrem hoher Wahrscheinlichkeit von *Enterococcus faecalis* akquiriert wurde (Flannagan et al., 2003; Perichon and Courvalin, 2004; Weigel et al., 2003). *VanA* setzt die Affinität der Zellwand für Vancomycin bis zu 1000fach herab (Bugg et al., 1991). Der *VanB*-Gencluster wird seinerseits mit Teicoplaninresistenz in Verbindung gebracht (Klare et al., 2012). *VanZ* steht ebenso in Verbindung mit einer Teicoplaninresistenz und wurde auch von *Enterococcus spp.* übernommen.

2.5.3.7 Glycylcycline

Glycylcycline sind halbsynthetische Derivate der Tetracycline. Zu dieser neuartigen Antibiotikaklasse gehört Tigecyclin. Es erfolgt eine Anlagerung an die 30S Untereinheit der Ribosomen und eine Behinderung der Proteinsynthese, die Verlängerung der wachsenden Proteinkette wird gestoppt. Sie binden mit erheblich höherer Affinität als Tetracycline an ihre

Literaturübersicht

Bindungsstelle und werden nicht mittels Effluxproteinen (z.B. *tetEfflux*) aus der Bakterienzelle hinausgeschleust. Tigecyclin kann in der Humanmedizin gegen MRSA eingesetzt werden (Starke, 2009; Tacconelli, 2012). Die Resistenz gegen Tigecyclin als Tetrazyklinderivat ist unabhängig von bakteriellen Resistenzen die auf Ribosommodifikation (*tetM*) oder Effluxmechanismen (*tetA-E*) beruhen und auch unabhängig von dem eventuellen Vorhandensein von β -Laktamasen (ESBLs) (Starke, 2009).

2.5.3.8 Lincosamide

Die Lincosamide (z.B. Clindamycin) binden an die 50S Untereinheit der Ribosomen. Sie blockieren die Bindung der Aminoacyl-t-RNA an die Peptidyltransferase. Lincosamide haben einen bakteriostatischen Effekt. Es ist allerdings zu beachten, dass es zu Interferenzen zwischen Makroliden und Lincosamiden kommen kann, da beide Stoffgruppen sich dieselbe Bindungsstelle im Bakterium teilen (Löscher, 2010). Clindamycin-resistente Stämme sind meist auch Erythromycin-resistent, allerdings gilt dies nicht immer auch umgekehrt (Starke, 2009). Clindamycin gilt als Reserveantibiotikum und sollte für schwere MRSA-Infektionen reserviert bleiben (Prabhu et al., 2011). Die Resistenzgene, welche Lincosamidresistenzen vermitteln, sind als „*erm*“ abgekürzt, *ermA/ermB/ermC/ermT* sind unter anderem bekannt. Die *erm*-Gene vermitteln Kreuzresistenz gegenüber Macroliden, Lincosamiden und auch Streptogramin B (MLS_B-Resistenz), wobei *ermA* und *ermC* am häufigsten auftreten (Roberts, 2008). *ErmC* vermittelt Erythromycin-Clindamycin-Resistenz (Werner et al., 2001). Auch das Gen *ermT* ist ein Multiresistenzgen, codiert es doch für Lincosamid-StreptograminA-Pleuromutilin-Resistenz (Kadlec et al., 2012).

2.5.3.9 Oxazolidinone

Die neuartigen Oxazolidinone wirken über eine Interaktion an der 50S Untereinheit der bakteriellen Ribosome und unterbinden dort den Aufbau des Initiationskomplexes (Starke, 2009). Die Proteinbiosynthese wird schon zu Beginn gehemmt. Linezolid steht der Humanmedizin als Wirkstoff zur Verfügung. Es ist vollkommen oral verfügbar, weist keinerlei Kreuzresistenz zu anderen Antibiotika auf und kann zur Bekämpfung von MRSA genutzt werden (Tacconelli, 2012). Die Aktivität von Linezolid ist unabhängig von eventuell vorhandenen weiteren Resistenzen gegenüber z.B. Vancomycin, Penicillin oder Oxacillin (Starke, 2009). Das Multi-Drug-Resistenz-Gen (MDR-Gen) *cfr* (Chloramphenicol-Florfenicol-Resistenz) beinhaltet neben Resistenzen gegen Phenikole, Lincosamide, Streptogramin und Pleuromutiline auch Oxazolidinon-Resistenz. Das *cfr*-Gen kann neben

dfpK (Trimethoprim-Resistenz) auf einem übertragbaren MDR-Plasmid (pERGB) lokalisiert werden (Gopegui et al., 2012). *Cfr* codiert für eine Methyltransferase, welche an der 50S Untereinheit des bakteriellen Ribosoms Modifikationen vornimmt (Arias et al., 2008; Toh et al., 2007). Bei Staphylokokken tierischen Ursprungs trat mehrfach das *cfr*-Gen auf (Kehrenberg and Schwarz, 2006; Morales et al., 2010). Aus medizinischer Sicht problematisch erscheint die Fähigkeit zur Übertragung durch mobile Plasmide zu sein (Diaz et al., 2012; Gopegui et al., 2012; Kehrenberg and Schwarz, 2006). Die Verbreitung von Oxazolidinonresistenz, basierend auf *cfr*, gilt noch als gering und entwickelt sich zurückhaltend (Arias et al., 2008; Toh et al., 2007).

2.5.3.10 Rifamycine

Zur Gruppe der Rifamycine gehört zum Beispiel Rifampicin (RMP). Ihre bakterizide Wirkung erreichen Rifamycine über eine irreversible Bindung an die β -Untereinheit der RNA-Polymerase (Campbell et al., 2001). Hierdurch kann das Enzym nicht mehr an die DNA andocken und die Kettenbildung kann nicht initiiert werden. Rifampicin ist zwar primär ein Antituberkulotikum kann aber auch erfolgreich gegen *S. aureus* eingesetzt werden. Resistenzen basieren z.T. auf Veränderungen an der RNA-Polymerase (Starke, 2009). Die β -Untereinheit selbst wird über das Gen *rpoB* codiert, wobei Mutationen am *rpoB*-Gen, respektive an der β -Untereinheit, von MRSA zur Resistenzentwicklung gegenüber Rifampicin führen (Aubry-Damon et al., 1998; O'Neill et al., 2006; Wichelhaus et al., 1999). Aktuelle Studien aus südafrikanischen und chinesischen Krankenhäusern zeigen eine sehr hohe Anzahl Rifampicin-resistenter MRSA innerhalb der für die jeweiligen Studien akquirierten Gesamtisolate an MRSA und unterstreichen deutlich die Gefahr einer stark zunehmenden Resistenz, basierend auf Mutationen am *rpoB*-Gen, gegenüber dem Antibiotikum Rifampicin (Jansen van Rensburg et al., 2012; Zhou et al., 2012).

2.5.3.11 Terpene

Fusidinsäure (FA) wirkt über eine Hemmung der Proteinsynthese am Ribosom bakteriostatisch. Es greift hier am Elongationsfaktor G (EF-G) an (Bodley et al., 1969; Koripella et al., 2012). Fusidinsäure ist in der Humanmedizin momentan nur noch als Präparat zur rein lokalen Anwendung verfügbar (Starke, 2009). Der Wirkstoff wird häufig zur Therapie von Staphylokokkeninfektionen in Kombination mit weiteren Wirkstoffen eingesetzt (Guo et al., 2012). Fusidinsäureresistenz wird über die Gene *fusA*, *fusB* (*farI*), *fusC* (*Q6GD50*), *fusD* und *fusE* vermittelt. *FusA* vermittelt Mutationen an EF-G die sich in einer

Literaturübersicht

high-level Resistenz äußern (Farrell et al., 2011). Eine low-level Resistenz wird durch *fusB* verursacht. *FusB* ist ein Protein, bestehend aus zwei Domänen und schützt *S. aureus* vor einer Hemmung durch FA (Farrell et al., 2011; Guo et al., 2012). Fusidinsäureresistenz konnte in einer Untersuchung von MRSA aus Schweineschlachtkörpern nur in vergleichsweise geringer Prozentzahl nachgewiesen werden. Lediglich in 4 % der untersuchten Isolate konnte eine Resistenz gegenüber Fusidinsäure gefunden werden (Ho et al., 2012). Als Risikofaktoren für die Entwicklung einer Resistenz wurde einzig eine vorangegangene Nutzung des Wirkstoffes identifiziert, ein Krankenhausaufenthalt oder systemische Antibiose mit anderen Wirkstoffen schieden als Co-Risikofaktoren aus. Trotzdem wird eine Resistenz als ernstzunehmendes Problem für die Behandlung von MRSA-bedingten Erkrankungen gesehen (Heng et al., 2013). Obwohl FA seit Jahrzehnten genutzt wird, konnte nur eine sehr schleichende Entwicklung von Resistenzen beobachtet werden (Farrell et al., 2011).

2.5.3.12 Epoxyde

Zu den Epoxyden gehört das Antibiotikum Fosfomycin. Es unterscheidet sich wesentlich in seiner Wirkweise von anderen Antibiotika. Fosfomycin wird in der Humanmedizin zur Therapie von *Staphylococcus*-Infektionen empfohlen (Starke, 2009). Es besteht das Risiko der Resistenzentwicklung unter Monotherapie, eine Kombinationstherapie wird dringend angeraten (Tacconelli, 2012). Der bakterizide Effekt beruht auf einer Störung der Mureinsynthese für die bakterielle Zellwand. Fosfomycin ist ein irreversibler Hemmstoff von MurA (vollständiger Enzymname: UDP-N-Acetylglucosamin-enolpyruvyl-transferase). MurA katalysiert innerhalb der Mureinsynthese den ersten Schritt. Die Fosfomycin-Resistenz basiert auf den sogenannten Genen *fosA* und *fosB*. *FosA* ist ein Mangan-abhängiges Enzym, welches die Inaktivierung von Fosfomycin durch Zusatz von Glutathion (GSH) bewerkstelligt (Liao and Thiel, 2013). *FosB* ist eine metallabhängige Thiol-S-Transferase, welche an der Resistenz gegenüber Fosfomycin beteiligt ist (Roberts et al., 2013). In Resistenzuntersuchungen zu Uropathogenen die als multidrug-resistant (MDR)-Pathogene klassifiziert wurden, MRSA eingeschlossen, wird eine Empfehlung zur Behandlung von Harntraktorerkrankungen (UTI) mit u.a. Fosfomycin ausgesprochen (Chen et al., 2013).

2.5.3.13 Mupirocin

Der Wirkstoff hat Einfluss auf die bakterielle Proteinbiosynthese indem die bakterielle Isoleucyl-t-RNA-Synthetase gehemmt wird (Starke, 2009). Die Proteinsynthese kommt zum Erliegen. In therapeutisch ausreichender Dosis wirkt es bakterizid und nahe der MHK

bakteriostatisch. Mupirocin wird in der Humanmedizin als Reserveantibiotikum und vor allem zur lokalen (nasalen) Behandlung im Rahmen der MRSA-Sanierung eingesetzt. Desweiteren findet es Anwendung bei der Behandlung von Hautinfektionen und Nahtinfekten (Seah et al., 2012). Es wird vor der Resistenzentwicklung durch MRSA gewarnt (Starke, 2009). Die Mupirocinresistenz ist noch nicht weit verbreitet unter MRSA und *S. aureus* allgemein. So stellte man bei 456 MRSA-Isolaten aus zwei koreanischen Krankenhäusern eine low-level und eine high-level Resistenz in maximal 17 % bzw. 2 % der untersuchten Isolate fest (Lee et al., 2013). Im Nachbarland China lag die Resistenzrate in 435 *S. aureus*-Isolaten bei nur knapp 2 % (mit Nachweis von *mupA*) (Wang et al., 2012). Die Resistenz wird meist auf das Vorhandensein des Plasmid-Gens *mupA* zurückgeführt (McNeil et al., 2011). McNeil et al. kommen ferner zu dem Schluss, *mupA* werde wesentlich häufiger von MSSA als von MRSA getragen. Neben *mupA* existiert ein neuer Resistenzmechanismus vermittelt über *mupB*, welches auf Plasmiden lokalisiert ist (Seah et al., 2012). Insgesamt ist das Auftreten von Mupirocin-resistenten *S. aureus* (MRSA eingeschlossen) stark gestiegen (Deshpande et al., 2002; Liu et al., 2010; Simor et al., 2007). Bedenklich jedoch ist vor allen Dingen das Zusammentreffen von Mupirocin-Resistenz (*mupA*) und gleichzeitig Desinfektionsmittelresistenzen (*qacA/B*, *smr*) in klinischen MRSA-Isolaten (Lee et al., 2013). Dies erschwert die MRSA-Sanierung und die Pflege betroffener humaner Patienten in bedenklichem Maße.

2.5.3.13 Streptogramine

Aus der Gruppe der Streptogramine ist in der EU das Kombinationspräparat aus Quinupristin/Dalfopristin zur Anwendung am Menschen zugelassen, weitere sind Virginamycin und Pristinamycin. Das Kombinationspräparat wird zum Einsatz gegen *S. aureus* (inklusive MRSA) empfohlen (Starke, 2009; Tacconelli, 2012). Es zeichnet sich durch starke synergistische Effekte gegenüber Gram-positiven Bakterien aus und ist eine Kombination aus sog. Streptogramin A- und Streptogramin B-Verbindungen (Bouanchaud, 1996, 1997; El Solh and Allignet, 1998; Jones et al., 1998). Streptogramine inaktivieren an der Peptidyltransferase die Akzeptor- und Donorregion (Löscher, 2010). Für die Resistenz gegenüber Streptograminen codieren mehrere Gene, die zum Teil schon seit mehr als einer Dekade im Fokus der Wissenschaft stehen. Sie werden als *vga*, *vgaB*, *vatB*, *vatA* und *vgBA* u.v.m. bezeichnet. Das Plasmid-Gen *vga* codiert für eine putatives ATP-Bindungsprotein und vermittelt Resistenz gegenüber Virginiamycin-artigen Antibiotika und auch gegen synergistische Kombinationen von A- und B-Verbindungen (Allignet et al., 1992). Das

Literaturübersicht

ebenfalls auf Plasmiden lokalisierte *vgaB*-Gen codiert eine Acetyltransferase, welche Streptogramin A (SgA) (damit ist Dalfopristin eingeschlossen) inaktiviert (Allignet and El Solh, 1997; Haroche et al., 2002). Eine weitere Acetyltransferase die SgA inaktiviert findet sich codiert auf *vat*-Genen (Allignet et al., 1998; Allignet et al., 1993). *Vgb* beherbergt eine Hydrolase die B-Verbindungen der Streptogramine inaktiviert und wurde auf einem Resistenzplasmid lokalisiert (Allignet et al., 1988). Eine Lactonase mit Wirkung gegen Streptogramin B-Verbindungen findet sich bei *vgbB*, mit hohem Verwandtschaftsgrad zu *vgb*-Lactonasen (Allignet et al., 1998). In Frankreich untersuchte *S. aureus* Stämme (n=3052) wiesen in nur 35 Fällen eine Quinupristin/Dalfopristin-Resistenz auf (Werner et al., 2001). Problematisch sind aber vor allem Multiresistenz vermittelnde Gene, welche gleichzeitig Streptogramine, Lincosamide und weitere Antibiotika betreffen können. In aktuellen Untersuchungen wurden Plasmide und Transposons mit entsprechenden Genen (*vgaA/vgaC/vgaE*) in LA-MRSA ST398 mit porcinem Ursprung nachgewiesen (Kadlec et al., 2012; Kadlec et al., 2010; Schwendener and Perreten, 2011).

2.5.3.15 Resistenz gegenüber Desinfektionsmitteln

Eine der wichtigsten hygienischen Maßnahmen zur Verhinderung der Verbreitung von MRSA ist die Dekontamination potentiell kontaminierter Räume, Gegenstände und Personen (Mayer et al., 2001). Allerdings hat der Gebrauch antiseptischer Substanzen wie Chlorhexidin (CHX) und quaternären Ammoniumverbindungen (QACs) zu einem Anstieg der Resistenz in MRSA-Stämmen geführt (Batra et al., 2010; Mayer et al., 2001; Sheng et al., 2009; Smith et al., 2008; Wang et al., 2008). So wies eine Arbeitsgruppe Ende der 1990-Jahre nach, dass bei MRSA eine zwei bis vierfach höhere Resistenz gegen CHX und QACs gegenüber ebenfalls getesteten Methicillin sensiblen *Staphylococcus aureus* (MSSA) vorlag (Suller and Russell, 1999). HA-MRSA entwickelten signifikant erweiterte Toleranz gegenüber QACs nach wiederholtem Kontakt mit nicht hemmenden Konzentrationen (Smith et al., 2008). Smith et al. (2008) kommen ferner zu dem Schluss, dass die aktuellen Maßnahmen an der Eindämmung der Verbreitung von MRSA gescheitert sind. Sogar in chlorhexidinhaltigen Seifenspendern wurden MRSA mit Chlorhexidinresistenzen nachgewiesen (Brooks et al., 2002). Doch auch in den Hygieneeinrichtungen des Personals innerhalb der Schweinestallungen wird der positive MRSA-Nachweis erbracht. Aus Proben von Duscheinrichtungen wurde ebenfalls MRSA isoliert (Leedom Larson et al., 2011; Leedom Larson et al., 2012). Drei Resistenzgene, *QacA/B/C*, konnten identifiziert werden als Vermittler einer Resistenz gegenüber organischen Kationen über den Mechanismus einer

„Multidrug-Efflux-Pumpe“ (Mitchell et al., 1998; Paulsen et al., 1995; Paulsen et al., 1996). Von solchen effluxpumpen-basierten Resistenzen gegenüber QACs und kationischen Bioziden wurde in Staphylokokken-Isolaten unterschiedlichster Herkunft berichtet. Klinische Isolate von *S. aureus* tragen eine Bandbreite an plasmid-gebundenen Qac-Genen (Mayer et al., 2001; Noguchi et al., 1999). Die QacA Pumpe vermittelt Resistenz gegenüber einer großen Bandbreite strukturell unterschiedlicher hydrophober Verbindungen inklusive QACs, interkalierender Farbstoffe (Ethidiumbromid eingeschlossen) und kationischer Biozide (Mitchell et al., 1998). QacB ist ebenfalls in der Lage QACs und interkalierende Farbstoffe aus der Zelle hinauszubefördern, vermittelt aber begrenzte Resistenz gegen divalente Kationen (Littlejohn et al., 1992). QacC schleust QACs und Ethidiumbromid aus (Littlejohn et al., 1992; Mitchell et al., 1998; Paulsen et al., 1995). Isolate mit Qac-Genen wiesen signifikant höhere minimale Hemmkonzentrationen (MICs) für Biozide auf, welche QACs und Chlorhexidingluconate enthielten (Smith et al., 2008). In Abwesenheit von Substrat unterbindet das Regulator-Gen *QacR* die Transkription von *QacA* und *QacB* durch Bindung an den QacA/B Promotor und Überdecken des Transkriptionsstartpunktes (Grkovic et al., 1998; Paulsen et al., 1996). Wenn Substrat vorhanden ist, bindet dies an das QacR Protein und bewirkt hieran eine Konformationsänderung und seine Loslösung an der Bindungsstelle, womit die Gentranskription (*QacA/B*) gestattet ist (Schumacher et al., 2001). Andere plasmid-gebundene Qac-Gene, *QacG*, *QacH* und *QacJ* wurden in Lebensmittel-, Pferde- und Rinder-/Veterinärisolaten von *S. aureus* identifiziert (Bjorland et al., 2005; Bjorland et al., 2003; Heir et al., 1999). Heir et al. betonen die Möglichkeit, dass QAC-Resistenzen ein potentiell Problem in der Nahrungsmittelindustrie sein könnten. HA-MRSA und CA-MRSA Isolate haben das Potential weitreichende Toleranzen gegenüber bioziden Wirkstoffen zu entwickeln und über die Expression von Qac-Efflux-Pumpen einen Selektionsvorteil gegenüber QACs und Chlorhexidingluconat auszubauen (Smith et al., 2008). Die Bedenken, dass, ähnlich wie bei Antibiotika, ein intensiver Kontakt von Hospitalkeimen mit Bioziden in einer Steigerung ihrer Resistenzlage gegenüber diesen Wirkstoffen mündet, steigen (Koljalg et al., 2002; Walsh et al., 2003).

3 Material und Methoden

3.1 Probenplan und Probenmaterial

Im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit wurde das Auftreten von MRSA in Schweinehaltungsbetrieben in den Bundesländern Nordrheinwestfalen, Hessen, Baden-Württemberg und Niedersachsen untersucht.

Bei der Probensammlung wurden die ausgewählten Betriebe nicht nach Haltungsform und Produktionsmuster unterschieden. Pro individuellem Betrieb wurden im Regelfall von zehn gesunden Tieren Nasentupferproben entnommen, hierbei wurde auf ein ausgewogenes Verhältnis der innerbetrieblichen Produktionsstufen und Stallabteile geachtet, um einen bestmöglichen Querschnitt zu bilden und eine möglichst für den jeweiligen Betrieb repräsentative Stichprobenauswahl zu generieren. Zusätzlich wurden vor dem Hintergrund möglicher Reservoirs und Übertragungsmöglichkeiten Umgebungsproben in den Stallanlagen entnommen. Hierbei lag der Schwerpunkt auf Beißketten, Tiertränken und Stäuben. Um einen möglichen Eintrag in die Krankenhausumgebung und die Bedrohung durch MRSA besser abschätzen zu können, wurden von positiv auf MRSA getesteten Krankenhauspatienten MRSA-Isolate akquiriert. Das Universitätsklinikum Heidelberg mit einer Kapazität von 2.000 Betten und einem jährlichen Patientenaufkommen von 90.000 stationären und 200.000 ambulanten Patienten diente als idealer Ausgangspunkt zur Akquisition von MRSA-Proben. Aufgrund seiner überregionalen Bedeutung und dem weit greifenden Einzugsgebiet setzt sich das Patientenaufkommen aus Bürgern aller Bundesländer zusammen. Die MRSA-Proben entstammen unterschiedlichen Bereichen des Universitätsklinikums (Chirurgie u.v.m.).

3.2 Probenentnahme und Transport

Während der gesamten Dauer der jeweiligen Probenentnahme wurden Nitrileinmalhandschuhe, Schutzoveralls sowie Plastikstiefelüberzieher getragen.

3.2.1 Nasentupferprobe



Abbildung 1: Entnahme einer Nasentupferprobe



Abbildung 2: Entnahme einer Nasentupferprobe

Für die Entnahme der Proben standen sterile Einmalnasentupfer „Eurotubo“ mit Amies Geltransportmedium (Fa. Deltalab, Spanien) zur Verfügung. Im Falle der Betriebe in Baden-Württemberg wurden das „Bakteriette“ Abstrich und Transportsystem genutzt, ebenfalls ein Amies Gelmedium (Fa. Copan, Italien). Zur Entnahme der Nasentupferproben war im Regelfall die Fixation der zu beprobenden Tiere notwendig. Bei den Tieren geschah dies durch manuelle Fixation des Kopfes. Die Nasentupfer wurden unter Vermeidung der Berührung des Nasenspiegels zwei bis drei Zentimeter tief in das linke Nasenloch eingeführt. Hier wurden sie an der Nasenschleimhaut entlang gestrichen und wieder vorsichtig entnommen. Die Nasentupferentnahme beim Menschen (Landwirte, Tierärzte und Studenten) erfolgte nach dem gleichen Prinzip. Der betreffende Personenkreis führte diese nach Aufklärung der Untersuchungsmethode und einer ausführlichen Beratung und Information über MRSA selbst ein. Die entnommenen Tupfer wurden unmittelbar nach Entnahme aus der Nase in Amiesmedium verbracht. Im Labor wurde sie dann unverzüglich weiterbearbeitet.

3.2.2 Staubproben



Abbildung 3: Entnahme einer Staubprobe



Abbildung 4: Entnahme einer Staubprobe

Die zu gewinnenden Staubproben wurden unter Zuhilfenahme von autoklavierten Lasurpinseln (Praktiker Baumarkt) und sterilen Kotsammelröhrchen (Cellstar, Fa. Greiner bio-one) gesammelt. Pro Betrieb wurde hierbei ein Kotröhrchen mit Stallstaub bis zu einem Drittel gefüllt. Die Entnahmestellen für diese Proben bestanden stets aus verschmutzten Fensterbänken, Stalltrennwänden, Leitungsrohren unterhalb der Stalldecke und diversen schwer zugänglichen (und damit schwer zu reinigenden) Nischen innerhalb des Stallbaus.

3.2.3 Sockentupferproben



Abbildung 5: Sockentupfer



Abbildung 6: Sockentupfer vor Stallbegehung

Zur Sockentupferprobenentnahme dienten trockene, zuvor im Labor zu Paaren verpackte, Vlies- Sockentupfer (PP-16, Fa. Finnimport, Hamburg). Sie wurden erst im Betrieb selbst aus den einzelnen Plastiktüten entnommen und zum Transport in neue sterile Plastiktüten verpackt. Die Sockentupfer wurden zu Beginn des Stallbesuchs im Eingangsbereich, unmittelbar nach der Hygieneschleuse über die Einwegstiefelüberzieher gezogen und kurz vor Verlassen des Betriebes wieder abgenommen. Hierzu wurde auf links gedreht und für den Transport wieder neu verpackt.

3.2.4 Tränkeproben

Die zu beprobenden Nippeltränken wurde mittels eines Nasentupfers (Eurotubo, Fa. Deltalab) beprobt. Es wurden nur Nippeltränken in belegten Buchten ausgewählt. Die Tupferproben wurden auf der äußeren Oberfläche der Nippeltränken und um die Nippelöffnung herum geführt.

3.2.5 Spielzeugproben



Abbildung 7: Spielketten im Stallabteil

Bei der Entnahme der Tupferproben von Beißketten und Stäben wurde analog zu den Tränkeproben ein Nasentupfer (Eurotubo, Fa. Deltalab) verwendet, der über die Oberfläche und die beweglichen Elemente der Spielketten gerollt wurde.

3.2.6 Akquisition von MRSA-Proben der Krankenhauspatienten

Die für die Studie verwendeten 220 MRSA-Proben wurden direkt aus der Routinediagnostik des Instituts entnommen. Die Routinediagnostik prüft eingehende Proben aus dem gesamten Universitätskrankenhaus auf das Vorhandensein von MRSA. Es wurde hierbei zwischen nasalen MRSA-Trägern und solchen mit einer MRSA-bedingten Erkrankung unterschieden.

3.3 Bakteriologische Untersuchung

3.3.2 Anreicherungsverfahren

Die im Rahmen der Betriebsbesuche gesammelten Proben wurden in ein flüssiges Anreicherungsmedium verbracht. Hierzu wurde eine Trypticase-Soja-Bouillon (CASO-Bouillon, Fa. Heipha Dr. Müller GmbH) genutzt. Das präparierte Anreicherungsmedium wurde sodann für 24 h bei 37 °C inkubiert.

3.3.1.1 Nasentupfer

Jeder einzelne Nasentupfer wurde in ein separates Röhrchen mit Caso-Bouillon verbracht. Die Nasentupferstäbe wurden unter rascher Eintauchbewegung mit dem Flüssigmedium in den Röhrchen in intensiven Kontakt versetzt und anschließend entsorgt. Die auf diesem Weg beimpften Röhrchen wurden wieder mit den dazu gehörenden Verschlusskappen versehen und in den Brutschrank gestellt.

3.3.1.2 Staubproben

Die Stäube enthaltenden Kotröhrchen wurden in einen sterilen Erlenmeyerkolben gestellt und mit Caso-Bouillon übergossen. Anschließend wurden die einzelnen Kotröhrchen kurz gemixt um eine bessere Kontaktaufnahme zwischen Staubpartikeln und Bouillon zu gewährleisten. Abschließend wurden sie mit steriler Alufolie verschlossen und ebenfalls in den Brutschrank gegeben.

3.3.1.3 Sockentupfer

Die Sockentupfer wurden in ein steriles Becherglas überführt und in diesem bis zur vollständigen Bedeckung mit Caso-Bouillon übergossen. Sodann folgte der Verschluss des Becherglases mit steriler Alufolie.

3.3.1.4 Tränkeproben

Die Tupfer der Tränkeproben wurden in Röhrchen mit Caso-Bouillon überführt und unter Auf- und Niederrühren in Kontakt mit der Bouillon gebracht und die Tupfer selbst entfernt.

3.3.1.5 Spielzeugproben

Die Spielzeugtupferproben wurden unter Auf- und Niederrühren in Caso-Bouillon gefüllte Röhrchen eingetaucht und hiernach entfernt.

3.3.2 Anzucht und Isolierung

Die Proben wurden in Caso-Bouillon für 24 h bei 37 °C inkubiert. Mit einer sterilen Einwegimpföse aus Plastik (Fa. Greiner bio-one) wurde jeweils nach erneutem Durchmischen der Proben sowohl eine Blutagarplatte (Columbia 5 % Schafblutagar) als auch ein Selektivagar (CHROMagar MRSA II, Fa. BD) beimpft. Dies erfolgte im Dreißenausstrich. Es wurde bei allen Probenarten (Nasentupfer, Stäube) nach diesem Prinzip verfahren. Nach jeweils 24 h Inkubation bei 37 °C wurden der Selektivagar und der Blutagar abgelesen. Hierbei zeigte sich stets eine vollständige Überwucherung der Blutagarplatten mit Sekundärkeimen, die in vorliegender Studie nicht berücksichtigt wurden. Auf dem Selektivnährboden stellten sich MRSA-verdächtige Kolonien als rosafarbene klein- bis mittelgroße Kolonien dar. Der Selektivnährboden CHROMagar MRSA II beinhaltet Cefoxitin als Wachstumshemmer unerwünschter Begleitkeime. Allerdings wuchs auch *Rothia nasimurium* in kleinen rosa Kolonien auf dem MRSA-Selektivagar. Es war somit eine weitere Anzucht von verdächtigen Kolonien notwendig, sie wurden auf eine Blutagarplatte

Material und Methoden

überimpft. Diese zweite Blutagarplatte wurde zur Unterdrückung von unerwünschten Begleitkeimen mit einem Hemmstoffplättchen (Sensi Disc Aztreonam 30 µg, Fa. BD) versehen. Die zweite Blutagarplatte konnte nach 24 h dem Brutschrank entnommen und abgelesen werden. Auf ihr stellten sich im Regelfall *S. aureus* verdächtige Bakterien gut abgegrenzt von sekundären Keimen dar. Meist war ein erneutes Anlegen einer Blutagarplatte notwendig, um den vermeintlichen Zielkeim (*S. aureus*) in Reinkultur zu isolieren. *S. aureus* stellt sich auf Columbia Schafblutagar als weiß-gelbliche mittelgroße, leicht feuchte Kolonie dar. Zusätzlich tritt eine unterschiedlich stark ausgeprägte Hämolyse auf.

3.3.3 Biochemische Differenzierung

Zur weiteren Abklärung wurde jedes Isolat unter Zuhilfenahme biochemischer Differenzierungsmöglichkeiten untersucht.

3.3.3.1 Katalase-Test

Verdächtige Kolonien wurden mittels Wasserstoffperoxidlösung auf das Vorhandensein des Enzyms Katalase hin untersucht. So ist eine einfache, direkte Unterscheidung in katalase-positive Staphylokokken und katalasenegative Streptokokken möglich, da *S. aureus* durch das Enzym Katalase in der Lage ist unter schäumender Reaktion Wasserstoffperoxid in Wasser und Sauerstoff zu spalten. Hierzu wurden Einzelkolonien separat mit Wasserstoffperoxid in Kontakt gebracht. Ein positiver Nachweis der Katalase äußerte sich in schäumender Blasenbildung, ein negativer im Ausbleiben dieser Reaktion.

3.3.3.2 Staph.Plus-Test

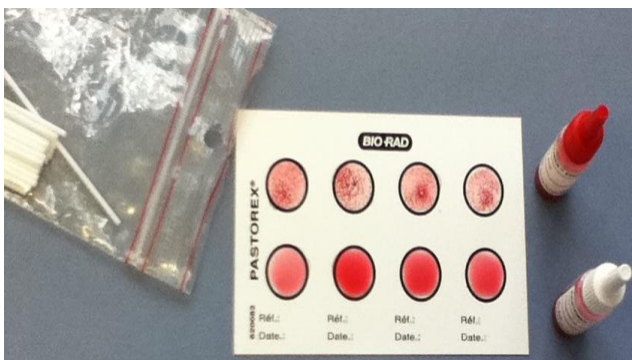


Abbildung 8: Staph.Plus-Test; obere Testreihe mit positiven Ergebnissen, untere Kontrollreihe negativ

Der Test wird zur Differenzierung von *S. aureus* und Koagulase-negativen Staphylokokken (KNS), zum Beispiel *S. epidermidis*, herangezogen. *S. aureus* verfügt über die im Folgenden

genannten drei Merkmale, welche alle mit dem Staph.Plus-Test (Pastorex Staph.plus-Testkit, Fa. BIO-RAD) nachgewiesen werden können. Dem Nachweis dienen gebundene Koagulase (sog. Clumping factor), das Hüllprotein Protein A, sowie spezifische Kapselpolysaccharide. Es handelt sich hierbei um einen Latex-Agglutinationstest, in dem rote Latexpartikel mit Fibrinogen und IgG-Antikörpern gegen spezifische Bestandteile der Polysaccharidkapsel sensibilisiert worden sind. Das Vorhandensein eines einzigen Merkmals reicht für einen positiven Agglutinationstest, bei gleichzeitig negativem Kontrollergebnis, aus. Zur Durchführung wird mindestens eine einzelne, abgegrenzte, zwischen 24 und 48 Stunden alte, Kolonien des verdächtigen Keimes benötigt. Nach gründlichem Durchmischen der Testreagenzien wird jeweils ein Tropfen der Test-/ und der Kontrollsubstanz auf das mitgelieferte Testkärtchen in die Testfläche gegeben. Mit einem Einmalrührstäbchen werden nun bis zu zehn Sekunden lang die zu testenden Kolonien in den Tropfen Reagenz eingerührt. Nach maximal 30 Sekunden kann mit bloßem Auge eine Agglutination beurteilt werden.

3.4 Asservierung der Proben

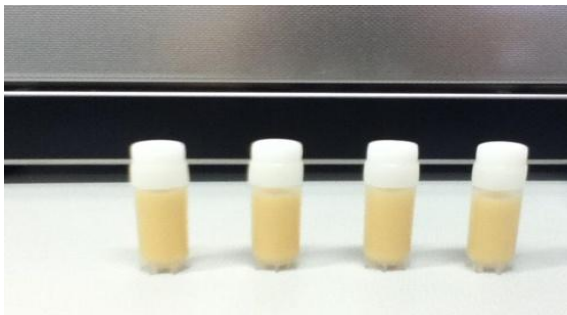


Abbildung 9: SkimMilk Röhren

Zur Kryokonservierung dienten maximal 24 h auf Blutagarplatten in Reinkultur gezüchtete MRSA. Diese wurden mit einem sterilen Wattetupfer (Fa. Heinz Herenz Medizinalbedarf GmbH) der Platte entnommen und in SkimMilk (Difco) Röhrchen suspendiert. Die Röhrchen (Serolab 1,8 ml) wurden sofort verschlossen und nach ihrer Beschriftung bei -25 °C eingelagert.

3.5 Identifikation der Proben

3.5.1 MALDI-TOF



Abbildung 10: Microflex LT

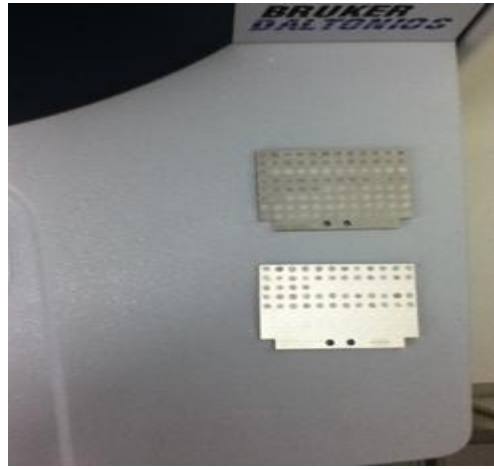


Abbildung 11: zu beimpfende „Metalltargets“

Die Matrix unterstützte Laser-Desorption/Ionisation time-of-flight (MALDI-TOF) Massenspektrometrie wird auch zur Identifizierung von Bakterien und Sprosspilzen genutzt.

Untersuchungsprinzip

Das Prinzip der Erregeridentifizierung beruht auf der Ermittlung von Massenspektren ribosomaler Proteine. Die durch die Untersuchung ermittelten Proteinspektren werden im Anschluss mit einer Computerdatenbank verglichen und somit eine Aussage über die Identität des Probenkeims getroffen.

Die Erreger werden auf einem sog. „Metalltarget“ mit einer speziellen Matrix (Rohmatrix, Fa. Bruker Daltonik GmbH) überdeckt. Es erfolgt eine Kokristallisation von Matrixsubstanz und zu analysierendem Bakterium mit einem bis zu 100.000 fachen molaren Überschuss an Matrixmolekülen. Die Analytmoleküle werden in die Matrix integriert. Die Matrixsubstanz selbst setzt sich aus organischen Molekülen zusammen, welche bei der verwendeten Laserwellenlänge Energie stark absorbieren. Anschließend an die Kokristallisation wird das Metalltarget mit den Proben in das Untersuchungsgerät eingefahren. In diesem baut sich ein Hochvakuum auf, in dem mit hochenergetischem Laserpuls das Bakterien-Matrix-Konglomerat Anregung erfährt und es zu explosionsartigen Teilchenablösungen kommt. Hierbei entstehen geladene Proteintrümmer. Die Trümmerpartikel erfahren im elektrischen Feld Beschleunigung. Flugzeit und Flugstrecke werden zur Erstellung des Proteinspektrums genutzt.

Durchführung

Zur Durchführung der Untersuchung werden frische Übernachtskulturen des Testkeims benötigt. Von einer Blutagarplatte werden einzelne Kolonien mit einer sterilen Öse entnommen. Die entnommenen Kolonien werden auf das „Metalltarget“ verbracht. Auf dem Metalltarget werden sie innerhalb einer umgrenzten Zone, dem sogenannten „Target Spot“, aufgetragen. Die auf das „Metalltarget“ aufgebrachten Bakterien werden mit 1 µl Matrix überdeckt. Das „Target“ wird bei Raumtemperatur trocknen gelassen. Nach dem Trocknen wird das „Metalltarget“ mit den matrixbedeckten Proben in den Microflex LT MALDI-TOF Massenspektrometer (Fa. Bruker Daltonik GmbH) eingefahren. Die Untersuchung und die Eingabe der zum Untersuchungslauf gehörenden Informationen erfolgt am Computer, der dem Untersuchungsgerät angeschlossen ist.

3.6 Untersuchung der Antibiotikaresistenz von MRSA

Der Einsatz von Antibiotika in nicht unerheblichem Umfang in der Schweinemedizin, stellte einen starken Antrieb dar, neben den MRSA-Isolaten der Krankenhauspatienten, sämtliche MRSA-Isolate aus dem Schweinereservoir auf ihre Antibiotikaresistenzen hin zu untersuchen. Es wurden 20 Antibiotika aus mehreren Wirkstoffgruppen getestet. Die Auswahl der Antibiotika sollte nach Möglichkeit sowohl veterinärmedizinisch als auch vor allem humanmedizinisch genutzte Wirkstoffe abdecken.

3.6.1 Antibiogrammerstellung mit dem Vitek 2

Untersuchungsprinzip

Das Vitek 2-System (Fa. bioMérieux) dient der automatischen Resistenzbestimmung von Bakterien. Das System besteht aus zwei miteinander verbundenen Arbeitseinheiten. Zum einen das Messgerät selbst (Vitek 2), zum anderen ein Computer (Smart Carrier Station Vitek 2) mit welchem Informationen über Testkarten und bakterielle Proben eingelesen und hierüber dem eigentlichen Messgerät bereitgestellt werden.

Das Vitek 2-System arbeitet mit zwei unterschiedlichen optischen Messsystemen. Die Transmissionsoptik misst anhand von sichtbarem Licht direkt das Keimwachstum der Proben. Hierzu wird Licht durch die Probenröhren mit bakterieller Suspension geschickt bevor bakterielles Wachstum in ihnen eingesetzt hat und hiernach alle 15 Minuten neu gemessen. Zusätzlich dient eine Fluoreszenzoptik der Messung der Aktivität und des Wachstums der Testkeime anhand chemischer Nebenprodukte.



Abbildung 12: Arbeitsplatz zur Durchführung der Resistenzuntersuchung via Vitek 2

Durchführung

Ausgangsmaterial der Untersuchung stellen Übernachtskulturen des zu untersuchenden Bakteriums dar. Von der Übernachtskultur des bekannten Keimes werden zwei bis drei einzelne Kolonien in ein Röhrchen mit 2 ml Air Life Sodium Chloride Inhalation Solution (Fa. CareFusion) verbracht und mittels Densicheck (Fa. bioMerieux) ein McFarland von 0,5-0,63 eingestellt. Das Trägersystem des Untersuchungssystems Vitek 2 wird mit dem Bakteriensuspensionsröhrchen beladen und mit einer Antibiotikatestkarte vom Typ AST-P576 (Vitek 2 gram positive susceptibility card, Fa. bioMerieux) versehen. Nach Eingabe der Begleitinformationen über die Bedieneinheit der Smart Carrier Station wird das fertig beladene Trägersystem manuell in den eigentlichen Vitek 2 eingelegt. Die Untersuchung der bakteriellen Proben erfolgt vollautomatisch über Nacht.

3.6.2 Agardiffusionstest nach EUCAST

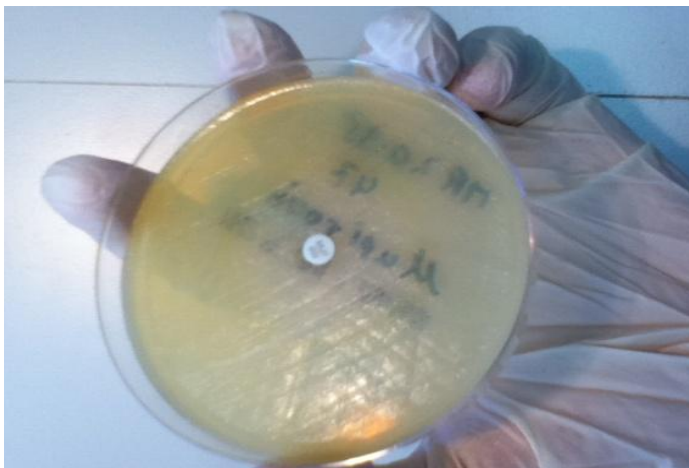


Abbildung 13: Agardiffusionstest mit Hemmhof auf beimpfter Platte

Untersuchungsprinzip

Der Agardiffusionstest nach EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) stellt eine Methode dar, um die Antibiotikaempfindlichkeit eines rasch, innerhalb von bis zu 24 Stunden, wachsenden Keimes zu testen. Ausgangsmaterial ist ein in Reinkultur wachsender Keim. Von einem mit Antibiotika getränkten Plättchen diffundiert der Wirkstoff in den Nährplattenboden und hemmt somit das Wachstum des auf dem Nährboden ausgebrachten Keims.

Durchführung

Zur Durchführung des Agardiffusionstests werden einer Übernachtskultur von *S. aureus* (Columbia-Agar mit 5 % Schaflut) drei bis fünf einzelne Kolonien mit einem sterilen Wattetupfer (Fa. Heinz Herenz Medizinalbedarf GmbH) entnommen. Dieser Tupfer wird in ein Reagenzglas mit 3 ml 0,9 % NaCl eingetaucht und somit eine Bakteriensuspension hergestellt. Die Suspension wird mittels eines Densimaten (Fa. bioMérieux) auf die bakterielle Dichte überprüft. Die Suspension sollte einen McFarland-Wert von 0,5 aufweisen. Mit einem neuen sterilen Wattetupfer wird eine Probe der hergestellten Keimlösung entnommen und auf Müller-Hinton Agar (MH2 Agar, Fa. bioMérieux) ausgestrichen. Der Ausstrich erfolgt hierbei dicht und unter zweimaligem Drehen der Testplatte um 60° insgesamt dreimal (sog. Kreuzausstrich). Zusätzlich wird der Rand der Testplatte einmalig umfahren. Nach Beimpfung der Testplatte wird in das Zentrum der Platte ein Mupirocin-testplättchen (Fa. BD) aufgebracht und die beimpfte Testplatte für 16-20 Stunden bei 37 °C im Brutschrank bebrütet. Die Auswertung erfolgt nach den Angaben in der Agardiffusions-Hemmstofftabelle nach EUCAST (EUCAST Clinical Breakpoint Table v 2.0).

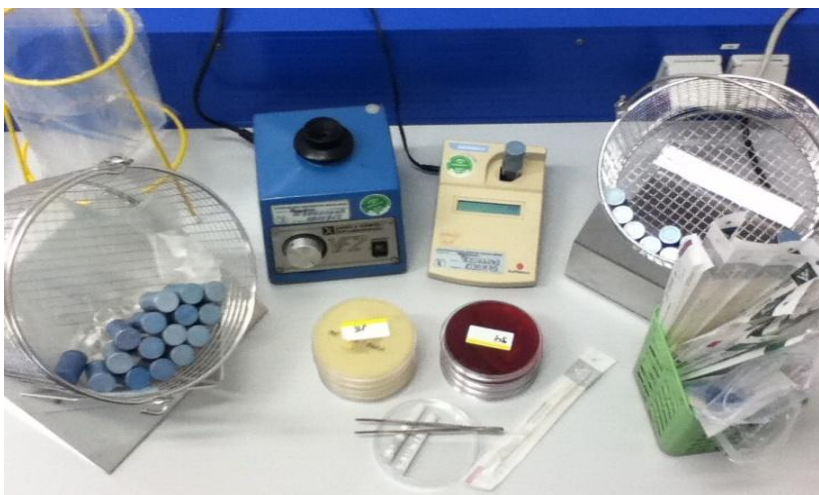


Abbildung 14: Arbeitsplatz zur Durchführung des Agardiffusionstests

3.7 Genotypisierung der MRSA-Isolate

3.7.1 Untersuchung der Isolate mit dem MicroArray-System

Das Microarray-System IdentiBac (Fa. Alere *GermAny*) wurde zur Genotypisierung der MRSA-Stämme verwendet, um Resistenzgene, Verwandtschaftsgrade der Stämme sowie genotypische Unterschiede zwischen LA-MRSA, HA-MRSA (CA-MRSA) herauszufinden.



Abbildung 15: ArrayMate-Untersuchungsgerät (Fa. Alere Technologies GmbH)

Untersuchungsprinzip:

Klonale DNS wird circa 40-fach vermehrt und mit Biotin-dUTP markiert, unter Anwendung eines linearen PCR-Protokolls. Die markierte Einzelstrang-DNS wird in Microarrays transferiert und hybridisiert. Diese sind mit 333 Einheiten ausgestattet, die verschiedene genetische Marker und eine Kontrollprobe enthalten. Die Auswertung erfolgt mittels Kamertechnologie durch Scannen der Arrays. Eine Vielzahl von Speziesmarkern, Toxin-, Virulenz- und Resistenzgenen, und andere Markergene werden hierbei über Auswertung der Unterschiede in der Hell- und Dunkelfärbung vom Computersystem erkannt. Die Ergebnisse liefern, unter anderem, Daten zur genetischen Prädisposition von Antibiotikaresistenzen und der Produktion von Virulenzfaktoren.

Durchführung

Extraktion und Purifikation der DNS

Ausgangsmaterial der Genotypisierung stellt die Extraktion der benötigten bakteriellen DNS dar. Zu Beginn der Untersuchung wurde eine frische Übernachtskultur von *S. aureus* benötigt. Von dieser wurde mithilfe einer sterilen Einmalöse (Fa. Greiner bio-one) genügend Koloniematerial entnommen und in eine Eppendorftube überführt. Das zum Untersuchungskit

gehörende Eppendorftube enthielt bereits ein Pellet Lysis Enhancer A2, dem zuvor 0,2 ml Lysis Puffer A1 zugefügt worden waren. Das Röhrchen wurde nun für 60 Minuten bei 37 °C bei 550 rpm in einen Thermomixer (Thermomixer comfort, Fa. Eppendorf) inkubiert. Die nun folgenden Arbeitsschritte sollen sich laut Bearbeitungsprotokoll des „Identibac *S. aureus* Genotyping Kit“ an dem „Quiagen blood and tissue kit“, Protokoll „Purification of Total DNA from Animal Blood or Cells“, orientieren. Für die Untersuchungen stand das „QIAamp DNA Blood Mini Kit (250)“ (Fa. Qiagen GmbH) zur Verfügung. Nach der Entnahme aus dem Thermomixer erfolgte die Zugabe von 25 µl Protease. Das Gemisch wurde kurz gevortext und bei 56 °C auf dem Heizblock für 10 Minuten inkubiert. Nach der Inkubation erfolgte ein Spindown und die Zugabe von 200 µl Ethanol, erneutes Vortexen und Spindown. Das vollständige Volumen des Eppendorftubes wurde im Anschluss mit einer Pipette in ein Spintube (Fa. Qiagen GmbH) überführt. Das Spintube selbst wurde nun bei 8.000 U/min für 60 Sekunden zentrifugiert. Das Volumen des Spintubes wurde hiernach in ein Collectiontube (Fa. Qiagen GmbH) überführt, unter Zugabe von 500 µl AW-1-Waschpuffer. Erneutes Zentrifugieren bei 8.000 U/min für 60 Sekunden und überführen in ein frisches „Collectiontube“ unter Zugabe von 500 µl AW-2-Waschpuffer. Nun erfolgte ein weiterer Zentrifugendurchgang bei 13.000 U/min für 180 Sekunden. Nach Beendigung dieses Zentrifugenschrittes wurde das Collectiontube auf ein neues Eppendorftube (Safe-Lock-Tubes; Fa. Eppendorf AG Hamburg) gesetzt und mit AE-Puffer zu 200 µl eluiert und nach 60 Sekunden Inkubation bei Raumtemperatur für 60 Sekunden bei 8.000 U/min zentrifugiert.

Lineare Amplifikation und „Biotin-Labeling“

0,5-1,5 µg klonaler DNS von *S. aureus* wurden nun in 5 µl ultrapures Wasser (Fa. Braun) überführt. Zur weiteren Bearbeitung der Proben war die Herstellung eines Mastermixes aus der Kombination von 4,9 µl B1 (Labelling Puffer) und 0,1 µl B2 (DNS-Polymerase) pro Probe notwendig. Die in ultrapurem Wasser (Aqua ad inectabilia, Mini-Plasco connect, Fa. B.Braun Melsungen AG) gelösten DNS-Proben wurden in den Mastermix überführt und die Proben in den Thermocycler (Primus 25; Fa. Clemens GmbH) gegeben. Das Heizprotokoll für den Thermocycler wurde zuvor auf dem Gerät programmiert, gespeichert und in zwei Schritten manuell gestartet. Zuerst wurde für einen Durchlauf jeweils das Programm „Vet-preheat“ und hiernach das Programm „Vet-heat“ initialisiert (Ablauf siehe Tabelle 2).

Material und Methoden

Tabelle 2: Ablauf des Thermo Cycler Protokolls modifiziert nach „Identibac S.aureus Genotyping Kit“ (Fa. Alere GermAny)

„Vet-Preheat“	Pre-heat cover/lid to 105 °C	
„Vet-Heat“	1 cycle with	300 sec at 96 °C
	45 cycles with	20 sec at 50 °C
		30 sec at 72 °C
		20 sec at 96 °C
	Cool down to 4 °C	hold

Hybridisation

Zu Beginn der Hybridisation wurde der Thermomixer mit einem Spezialaufsatz für Array-Streifen (Fa. Quantifoil Instruments GmbH) versehen und auf 55 °C vorgeheizt. Zusätzlich wurden 90 µl C1-Puffer unter vorsichtigem Vermischen jeder Probe zugegeben. Die eigentlichen Array-Untersuchungsstreifen konnten nun ihrer Verpackung entnommen und mit 200 µl ultrapurem Wassers (Aqua ad iniectionabilia, Mini-Plasco connect, Fa. B.Braun Melsungen AG) gereinigt werden. Nach dem Waschschrift wurde das Wasser verworfen und die Arrays mit C1-Puffer (200 µl je Well) bei 55 °C, 550 rpm für 120 Sekunden inkubiert bevor auch C1 verworfen werden konnte. Nun wurde die Hybridisierungsmixtur (100 µl je Well) zugeführt und für 55 °C, 550 rpm 60 Minuten auf dem Thermomixer inkubiert.

Detektion

Nach Abschluss der Hybridisierung wurden die Array-Streifen dem Thermomixer entnommen und dieser auf 30 °C neu eingestellt. Die Hybridisierungsmischung konnte den Wells entnommen werden, hierbei war auf eine möglichst vollständige Entfernung des Gemisches zu achten um anschließende Messfehler auszuschließen. Es folgten drei Waschschriffe mit C2-Puffer (jeweils 200 µl C2 pro zu waschendem Well). Bevor die Untersuchung fortgeführt werden konnte, wurde ein HRP-Konjugat, bestehend aus C3-Reagenz (Streptavidin-Horseradish Peroxidase) und C4-Puffer im Verhältnis 1:100 hergestellt. Hierbei wurde dem Pipettierschema in Tabelle 3 gefolgt.

Tabelle 3: Pipettierschema C3/C4-Reagenz, nach Identibac *S. aureus* Genotyping Kit (Fa. Alere GermAny)

	1 Well	2-3 Wells	4-6 Wells	7-10 Wells	11-15 Wells	16-20 Wells	21-30 Wells	31-40 Wells
C3	1,5 µl	3.5 µl	7 µl	11 µl	16 µl	21 µl	32 µl	42 µl
C4	150 µl	350 µl	700 µl	1.100 µl	1.600 µl	2.100 µl	3.200 µl	4.200 µl

Nach der Ausführung des angegebenen Pipettierschemas konnte das D1-Reagenz bereitgestellt und vorgewärmt werden. Hierzu wurde D1 in für den jeweiligen Probendurchlauf ausreichender Menge (100 µl für jedes zu nutzende Well) in ein separates Gefäß abgefüllt und dieses bei maximal 20-25 °C bereitgestellt. Es musste hierbei beachtet werden, dass kalte D1 zu schwachen Auslesesignalen führen kann. Die zuvor bereitgestellte C3/C4-Mixtur wurde nun in die einzelnen Wells zu je 100 µl überführt und für 10 Minuten bei 30 °C, 550 rpm, inkubiert. Das C3/C4-Reagenz wurde im Anschluss an die Inkubation wieder aus den Wells herauspipetiert. Es folgte ein zweimaliger Waschschrift mit C5-Puffer (jeweils 200 µl pro Well). C5-Puffer wurde hiernach ebenfalls wieder aus den Wells entnommen. Als letzter Bearbeitungsschritt erfolgte nun die Zugabe von D1-Reagenz. D1 enthält ein Substrat für die HRP und wurde vor dem Zufügen in die Wells vorgewärmt und kurz zentrifugiert. Jeweils 100 µl D1 wurden je Well überführt und bei Raumtemperatur für fünf Minuten inkubiert und nach der Inkubation so vollständig wie möglich mit der Pipette entfernt. Die Array-Streifen konnten nun gestützt auf einen Trägerrahmen in den ArrayMate eingefahren werden. Der ArrayMate (Fa. Alere Technologies GmbH) wertete die Ergebnisse unter Zuhilfenahme einer speziellen auf dem Gerät vorinstallierten Software (Fa. Clondiag, Inverness Medical) aus.

Material und Methoden



Abbildung 16: Array-Streifen steril verpackt und Tragerahmen

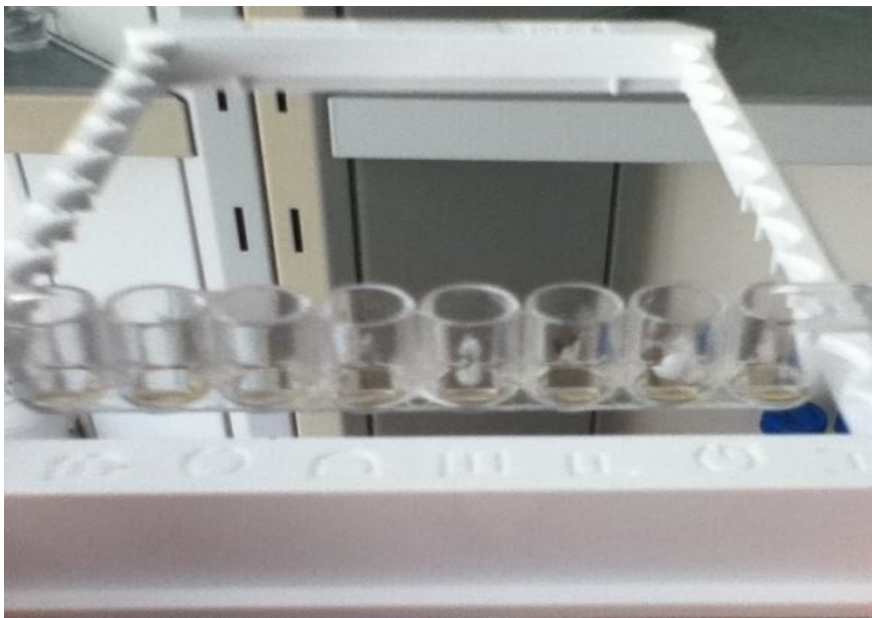


Abbildung 17: Array-Streifen fertig zur Untersuchung

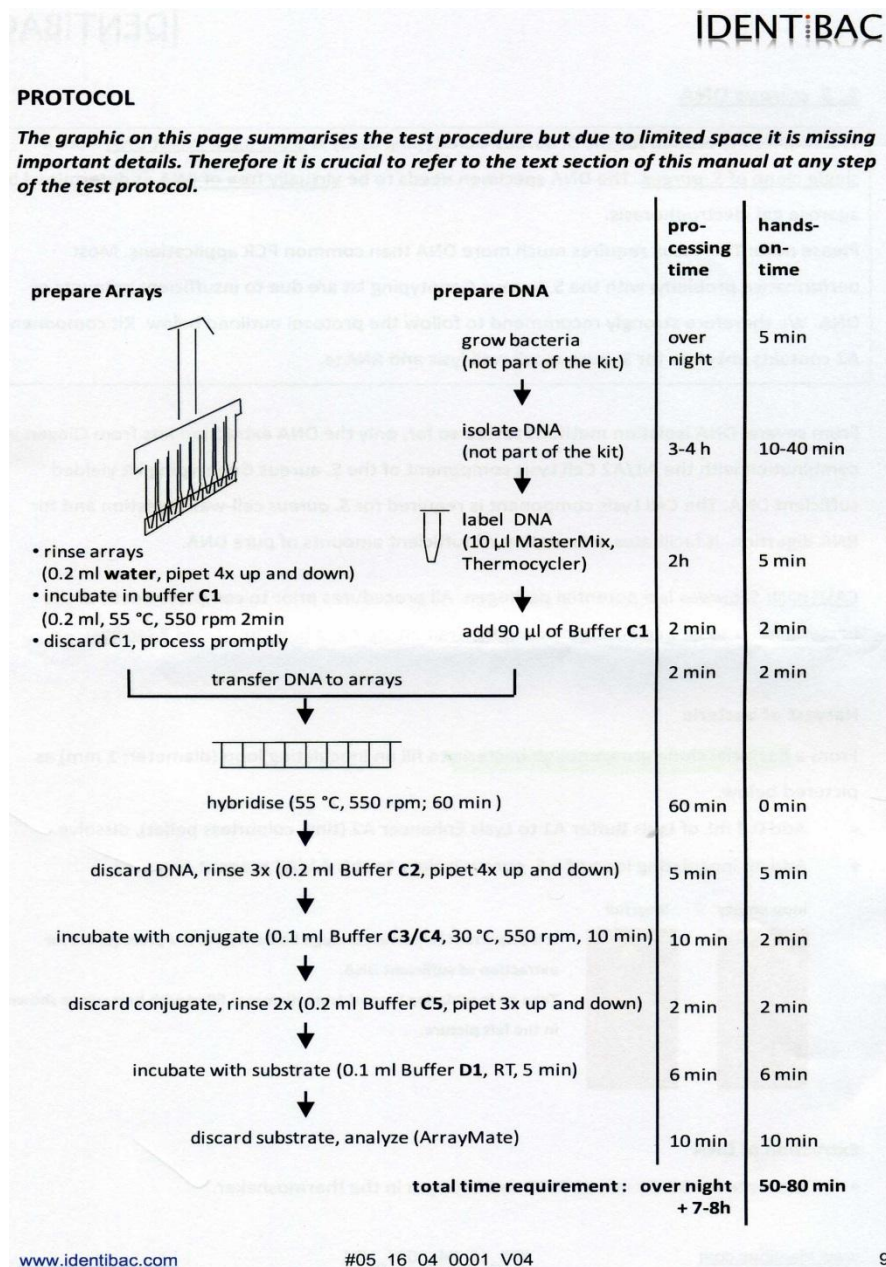


Abbildung 18: Arbeitsablaufprotokoll MicroArray (Fa. Alere GermAny)

3.8 Statistische Auswertung

Die Auswertung der von Krankenhauspatienten, Tieren, Landwirten, Tiermedizinern und Umgebungsproben erhobenen Daten erfolgte unter Nutzung von SPSS 21. Die Daten wurden zuerst mit Microsoft Office Excel 2010 gesammelt, in SPSS 21 überführt und anschliessend mit SPSS 21 ausgewertet. Die explorativen p-Werte wurden je Fragestellung mit der Bonferroni-Methode angepasst.

Ergebnisse

4 Ergebnisse:**4.1 Verteilung und Standorte der untersuchten Schweinehaltungsbetriebe**

Im Zeitraum von Juni 2012 bis Oktober 2012 erfolgte die Probenentnahme in 28 Betriebsbesuchen auf 27 Schweinehaltungsbetrieben in vier Bundesländern (Niedersachsen/Nordrhein-Westfalen/Hessen/Baden-Württemberg) (s. Abbildung 19). Im Rahmen der Probensammlung wurde der landwirtschaftliche Lehrbetrieb der Justus-Liebig-Universität Gießen zweimal aufgesucht. Ebenfalls wurde ein Gemeinschaftsbetrieb zweifach beprobt, da hier zwei voneinander räumlich und wirtschaftlich getrennte Schweinehaltungen vorzufinden waren.

Im oben genannten Zeitraum wurden insgesamt 542 Proben entnommen. Die Verteilung der Probenanzahl ist in Abbildung 20 dargestellt. Es wurden sowohl Nasentupferproben von Schweinen verschiedener Altersklassen und deren Stallumgebung als auch von Personen mit engem beruflichem Tierkontakt gewonnen.

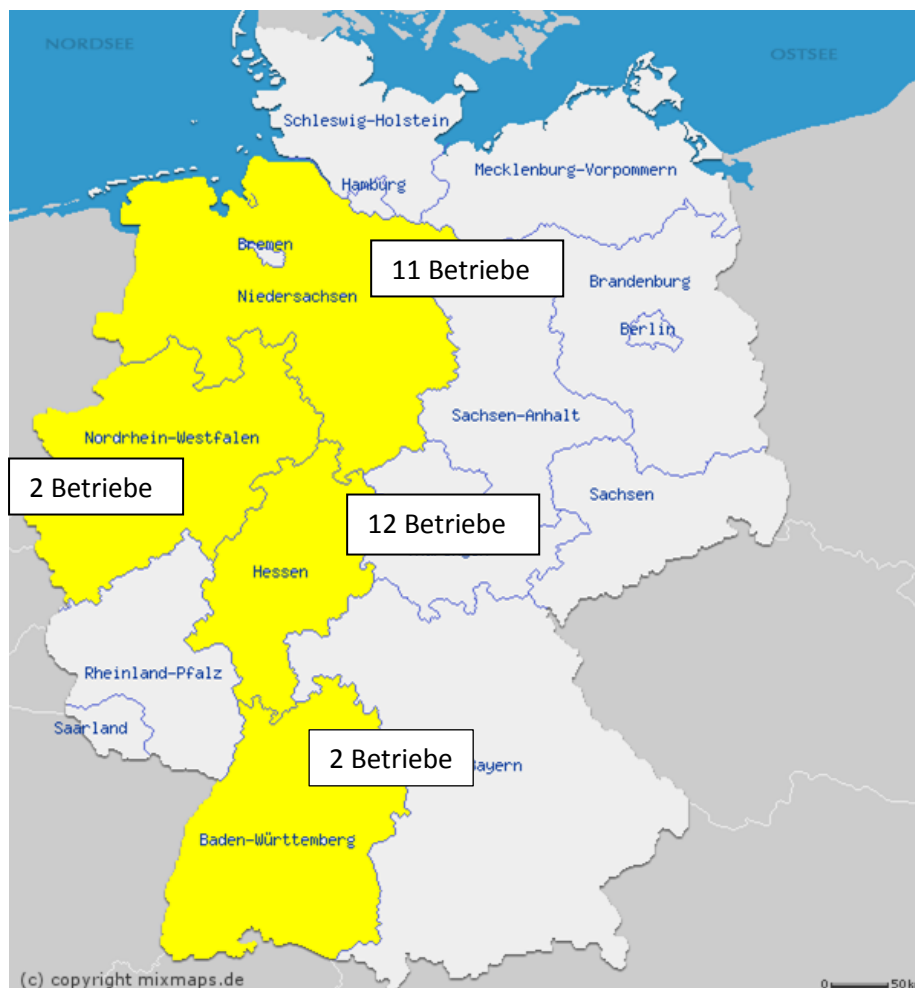


Abbildung 19: Darstellung der Bundesländer, in welchen Betriebe beprobt wurden

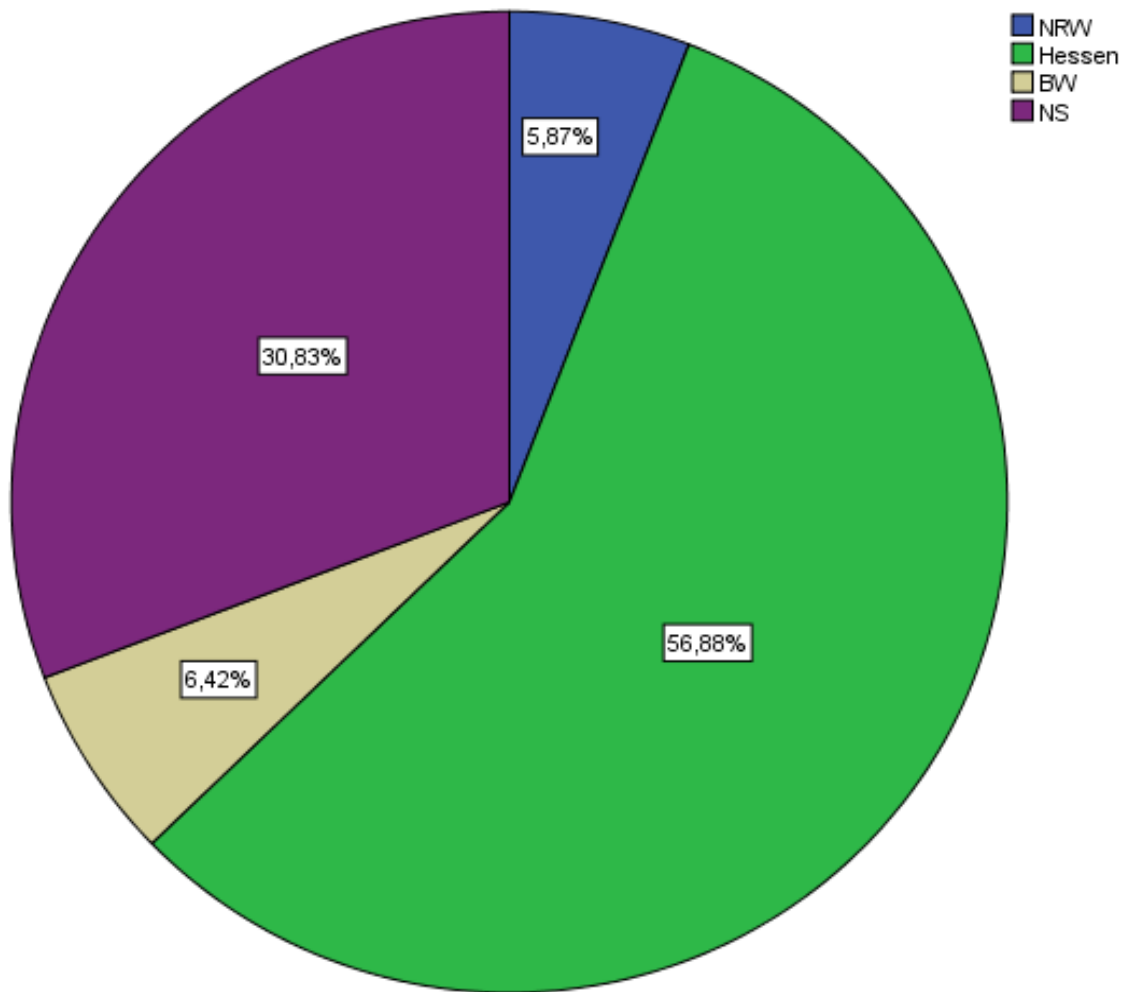


Abbildung 20: Verteilung der Probenanzahl aus dem Veterinärsektor auf die einzelnen Bundesländer

4.2 MRSA-Prävalenz in den untersuchten Betrieben

Als MRSA-positiv wurde ein Betrieb gewertet, sofern bei mindestens einem beprobten Tier oder einer Umgebungsprobe MRSA nachgewiesen werden konnten. Auf diese Art und Weise galten insgesamt 85,18 % der beprobten Betriebe als MRSA-positiv. Sie verteilten sich wie folgt auf die einzelnen Bundesländer. Die Betriebe in Nordrhein-Westfalen waren zu 100 % positiv. Die untersuchten Betriebe in Baden-Württemberg waren ebenfalls zu 100 % MRSA-positiv. Aus der Gesamtheit der untersuchten Schweinehaltungsbetriebe aus Niedersachsen konnten 90,9 % positive Betriebe ermittelt werden. In den untersuchten hessischen Schweinehaltungen gelang der MRSA-Nachweis in 69,2 %. Die beprobten Schweinehaltungsbetriebe waren bis auf eine Ausnahme konventionell wirtschaftende landwirtschaftliche Unternehmen. Ein Betrieb war biologisch wirtschaftend; dieser,

Ergebnisse

biologische Landwirtschaft und Tierzucht betreibende Betrieb, stellte sich in der MRSA-Überprüfung der Nutztierbetriebe als MRSA-negativ heraus.

4.3 Prävalenz von MRSA bei unterschiedlichen Altersgruppen der Schweine

Aus Tabelle 4 kann entnommen werden, dass die MRSA-Prävalenz bei Mastschweinen mit 59,8 % im Vergleich zu Ferkeln mit 49 % und Sauen mit 25,6 % am höchsten war. Insgesamt konnte in circa 50 % der Nasentupferproben MRSA nachgewiesen werden. Die bei den Ferkeln festgestellte höhere nasale MRSA-Besiedlung im Vergleich zu den Sauen ist statistisch signifikant ($p = 0,024$). Der MRSA-Nachweis ist auch bei Mastschweinen und Sauen signifikant unterschiedlich ($p < 0,001$). Zwischen Mastschweinen und Ferkeln konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden ($p = 0,096$).

Tabelle 4: Untersuchte und MRSA-positive Tiernasentupferproben

	Nasentupferproben	MRSA-positiv	Prävalenz in %
Mastschweine	132	79	59,8 %
Ferkel	155	76	49 %
Sauen	43	11	25,6 %
Gesamt	330	166	50,3 %

4.4 Prävalenz von MRSA bei Umgebungsproben

Die Sockentupferproben zeichnen sich durch die höchste Prävalenz von 75 % aus. Im Mittelfeld rangierten die MRSA-Prävalenz von Spielketten mit 53,1 % sowie die Tränkeproben mit 52,5 %. Die Staubproben wiesen in 50 % der untersuchten Proben MRSA auf. Die Sockentupferproben, mit 75 % MRSA-Prävalenz innerhalb der Gruppe der Umgebungsproben, unterschieden sich nicht signifikant in der Nachweishäufigkeit von den Kettenproben ($p = 0,2$) und den Staubproben ($p = 0,17$). Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den Sockentupferproben und den Tränkeproben ($p = 0,11$). In zwei der untersuchten Betriebe konnten nur positive Umgebungsproben gefunden werden, das heißt, keine der untersuchten Tiere waren hier MRSA-positiv, während in vier Betrieben weder Tiere noch Umgebungsproben einen Nachweis von MRSA lieferten. In einem einzelnen Betrieb wurde der positive Nachweis bei den Tieren, nicht aber bei den genommenen Umgebungsproben erbracht.

Tabelle 5: Untersuchte und MRSA-positive Umgebungsproben

	Probe	MRSA-positiv	Prävalenz
Staub	30	15	50 %
Sockentupfer	32	24	75 %
Tränke	40	21	52,5 %
Spielkette	32	17	53,1 %
Gesamt	134	77	57,4 %

4.5 Prävalenz von MRSA bei beruflich exponierten Personen

Die Teilnahmebereitschaft vor allem der Landwirte an einer Überprüfung zwecks MRSA-Trägerschaft war sehr hoch im Gegensatz zu den Tierärzten und Veterinärmedizinstudenten, von deren Seite viele nicht bereit waren, an der Studie teilzunehmen. Es konnten 38 Landwirte als Studienteilnehmer gewonnen werden, die sich auf 22 Betriebe verteilten. Bei sechs Betrieben standen Landwirte nicht zur Beprobung zur Verfügung. Von den 38 Landwirten waren 24 MRSA-positiv (s. Tabelle 6). Damit betrug die Prävalenz innerhalb dieser Personengruppe 63,5 %. Die 24 positiv getesteten Landwirte wiederrum verteilten sich auf 17 Betriebe (s. Abbildung 21). In zwei der untersuchten Betriebe, die allerdings MRSA-negativ getestet wurden, konnte jeweils bei den dort beprobten Landwirten MRSA nachgewiesen werden. Auf Nachfragen ergab sich bei keinem Landwirt das Vorliegen einer MRSA-bezogenen Erkrankung. Es fiel das gehäufte Auftreten von MRSA-positiven Landwirten bei ebenfalls MRSA-positiven Betrieben auf.

Die Gruppe der Tierärzte wies in 33,3 % eine nasale MRSA-Trägerschaft auf, es handelte sich hierbei ausschließlich um Tierärzte des Fachgebiets Schweinemedizin die aktiv in der Bestandsbetreuung tätig waren. Die Veterinärmedizinstudenten, welche Bestandbesuche aktiv begleiteten, waren zu 75 % MRSA-positiv. Bis auf einen MRSA-positiven Studenten waren alle anderen mit dem Besuch eines MRSA-positiven Bestandes assoziiert.

Tabelle 6: Übersicht der MRSA-positiven Proben der beruflich exponierten Gruppe

	Probe	MRSA-positiv	Prävalenz
Landwirt	38	24	63,5 %
Tierarzt	9	3	33,3 %
Student	16	12	75 %
Gesamt	63	39	61,9 %

Ergebnisse

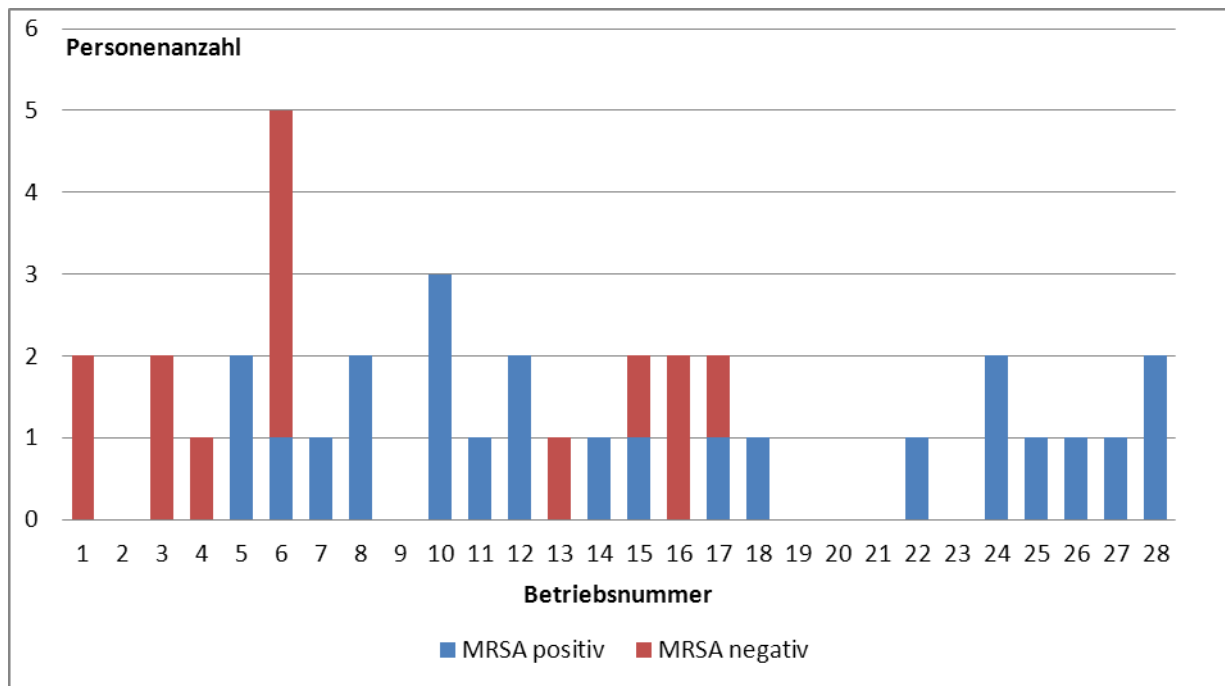


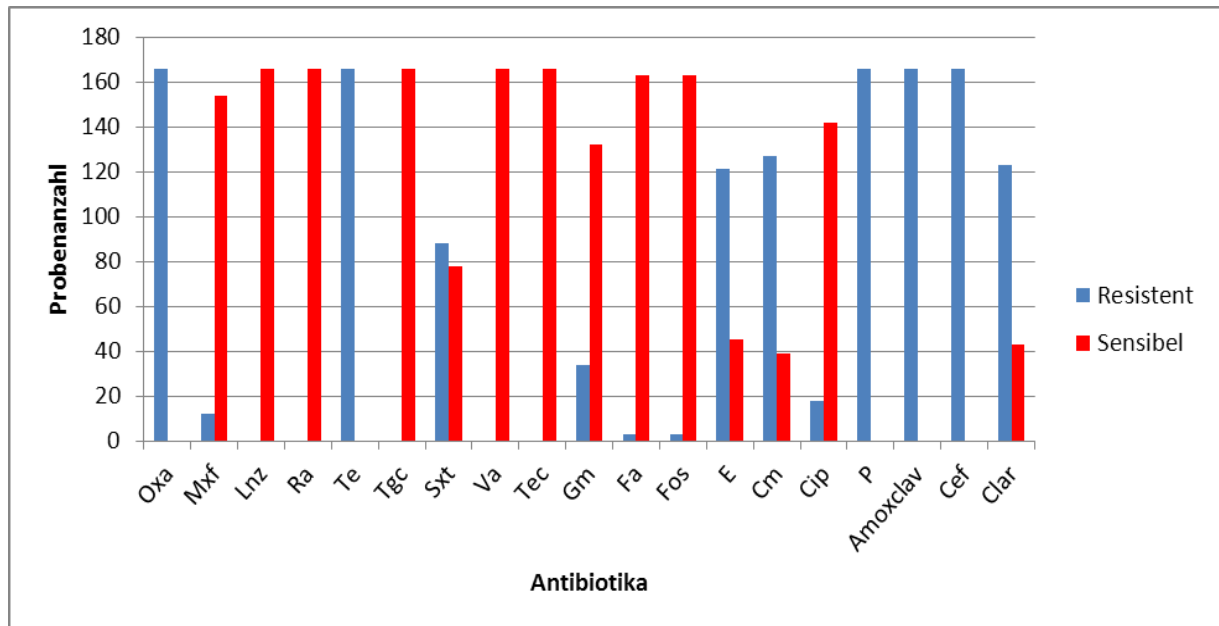
Abbildung 21: Verteilung der beprobten Landwirte auf die Betriebe

4.6 Antibiotikaresistenzen

Die Werte für die resistenten Isolate beinhalten die als intermediär geltenden Isolate.

4.6.1 Resistenz gegenüber Antibiotika bei MRSA-Isolaten vom Schwein

Die 166 porcinen Isolate zeichneten sich durch 100 % Resistenz gegenüber Tetrazyklin aus (s. Abbildung 22). Ebenfalls konnte eine bei 76,5 % der MRSA-Isolate beobachtete Clindamycinresistenz festgestellt werden. Die Häufigkeit einer Makrolidresistenz lag bei circa 73 % der MRSA-Isolate, bezogen auf die beiden getesteten Wirkstoffe Erythromycin und Clarythromycin. Bezüglich des Wirkstoffs Trimethoprim wurde in 53 % der überprüften Isolate eine Trimethoprimresistenz nachgewiesen. Der Wirkstoff Gentamicin begegnet in 20,5 % der Isolate einer Antibiotikaresistenz. Relativ niedrige Resistenzen wurden mit 10,8 % bei Ciprofloxacin, mit 7,2 % bei Moxifloxacin und 1,8 % bei Fusidinsäure (insgesamt bei drei Isolaten) nachgewiesen. Ebenfalls in nur drei MRSA-Isolaten konnte eine Fosfomycinresistenz festgestellt werden. Gegenüber den Wirkstoffen Linezolid, Tigecyclin, Rifampicin, Teicoplanin und Vancomycin konnten keinerlei Resistenzen gefunden werden.



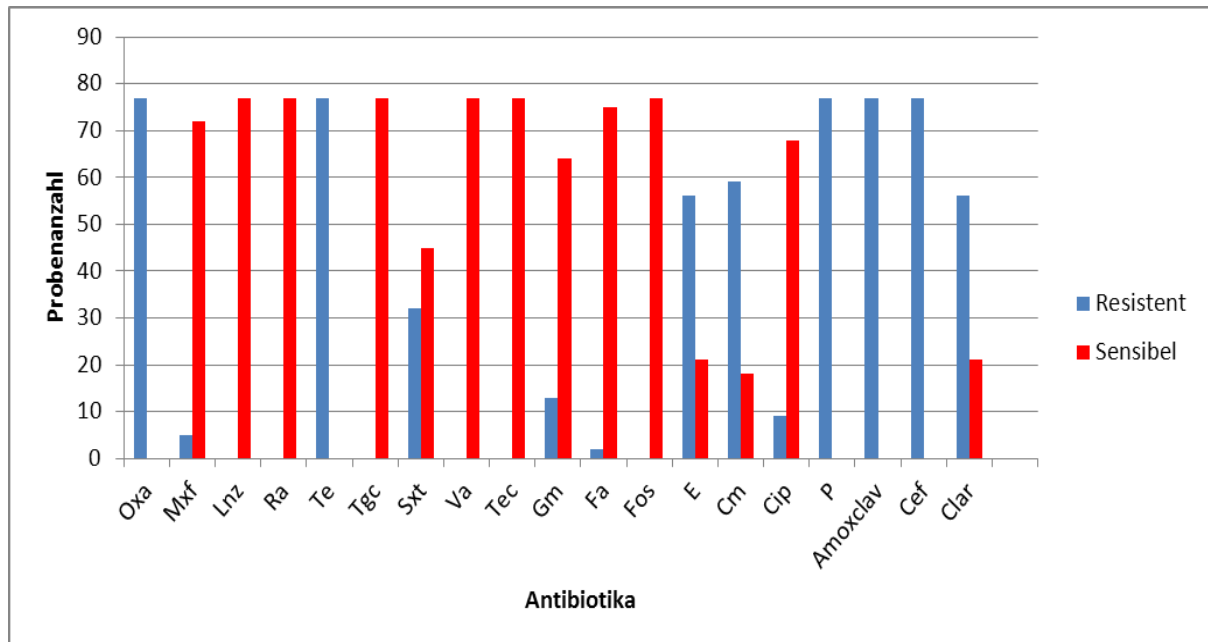
Oxa: Oxacillin; Mxf: Moxifloxacin; Lnz: Linezolid; Ra: Rifampicin; Te: Tetrazyklin; Tgc: Tigecyclin; Sxt: Trimethoprim; Va: Vancomycin; Tec: Teicoplanin; Gm: Gentamicin; Fa: Fusidinsäure; Fos: Fosfomycin; E: Erythromycin; Cm: Clindamycin; Cip: Ciprofloxacin; P: Penicillin; Amoxilcav: Amoxicillin/Clavulansäure; Cef: Cefuroxim; Clar: Clarythromycin

Abbildung 22: Antibiotikaresistenz der MRSA aus dem Schweinereservoir in n

4.6.2 Resistenz gegenüber Antibiotika bei MRSA aus der Stallumgebung

Die Umgebungsprobenisolate waren durch eine, wie bei den porcinen Isolaten ebenfalls vorkommende, 100 % ige Tetrazyklinresistenz charakterisiert. Weit verbreitet in der Gruppe der Umgebungsprobenisolate war die Clindamycinresistenz. Sie bewegt sich auf vergleichbarem Niveau der porcinen MRSA und liegt bei 76,6 %. Bei den Schweinen konnte eine Markolidresistenzrate von circa 73 % bei den untersuchten MRSA beobachtet werden. In der Stallumgebung der Tiere detektierte MRSA wiesen eine vergleichbar hohe Erythromycin- und Clarythromycinresistenz mit circa 73 % auf. Die Trimethoprimresistenz lag mit 41,5 % allerdings ein wenig niedriger als bei den porcinen Isolaten zu beobachten war (hier: 53 % Resistenz). Ebenfalls leicht niedriger mit 16,9 % im Vergleich zu 20,5 % bei den Schweinen war die Gentamicinresistenz in den Stallumgebungsproben. Die Fluorchinolone Ciprofloxacin und Moxifloxacin wiesen eine relativ geringe Resistenzrate von 11,7 % bzw. 6,5 % auf. Damit liegen sie in vergleichbarer Höhe mit den den Schweinen entstammenden MRSA. Gegenüber dem Wirkstoff Fusidinsäure fanden sich nur in drei Isolaten Resistenzen. Wie auch bei den porcinen MRSA so lagen auch hier keine feststellbaren Resistenzen gegenüber Vancomycin und Teicoplanin vor. Die als Reserveantibiotika eingesetzten antibiotischen Wirkstoffe Fosfomycin, Rifampicin, Linezolid und Tigecyclin waren im Antibiogramm gegenüber den MRSA der Stallumgebung voll wirksam.

Ergebnisse



Oxa: Oxacillin; Mxf: Moxifloxacin; Lnz: Linezolid; Ra: Rifampicin; Te: Tetrazyklin; Tgc: Tigecyclin; Sxt: Trimethoprim; Va: Vancomycin; Tec: Teicoplanin; Gm: Gentamicin; Fa: Fusidinsäure; Fos: Fosfomycin; E: Erythromycin; Cm: Clindamycin; Cip: Ciprofloxacin; P: Penicillin; Amoxilcav: Amoxicillin/Clavulansäure; Cef: Cefuroxim; Clar: Clarythromycin

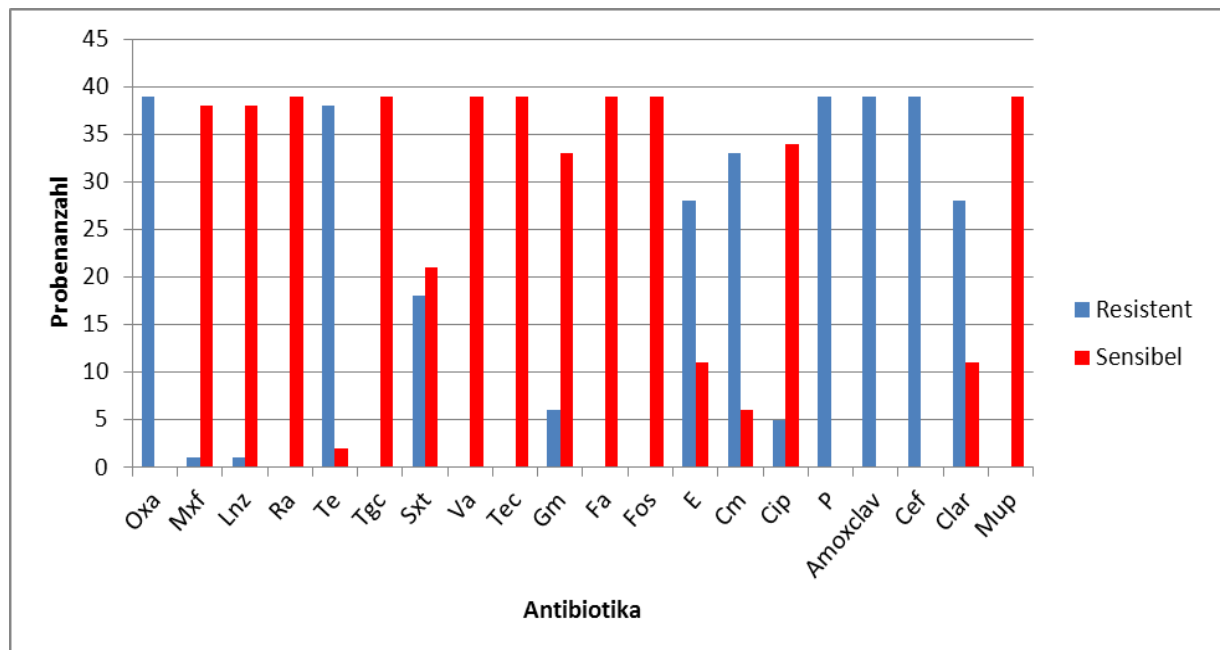
Abbildung 23: Antibiotikaresistenz der MRSA aus der Stallumgebung in n

4.6.3 Resistenz gegenüber Antibiotika bei MRSA-Isolaten von beruflich exponierten Personen

Hier wurde im Gegensatz zu den porcinen und Umgebungsisolaten auch das Antibiotikum Mupirocin mit in das Untersuchungsspektrum aufgenommen.

Die 39 Isolate der Menschen mit beruflichem Schweinekontakt waren bis auf ein einziges Isolat alle gegen Tetrazyklin resistent (97,4 %). Dies deckt sich weitestgehend mit den Tetrazyklinresistenzen der Isolate aus der Schweineumgebung und den Tieren selbst. Die Clindamycinresistenz war mit 84,6 % stark ausgeprägt. Sie lag leicht höher in den hier untersuchten humanen MRSA-Isolaten als in den porcinen Isolaten mit 76,5 % Resistenz. Der Clindamycinresistenz folgten mit 71,7 % resistenter Isolate die Makrolide Erythromycin und Clarythromycin, die wie auch die Tetrazyklin- und Clindamycinresistenz im Bereich der zuvor beobachteten Resistenzbereiche bei den Schweinen und deren Stallumgebung lagen. Die Resistenzwerte für Trimethoprim waren mit 46,1 % anzugeben und hiermit ebenfalls vergleichbar mit den Resistenzmessungen der porcinen Tier- und Umgebungsisolate. Ferner lagen die Resistenzen für die Wirkstoffe Gentamicin bei 15,38 % und Ciprofloxacin bei 12,8 %. Die getesteten MRSA-Isolate wiesen keine Resistenz im Bereich der Glycopeptide auf. Es konnten auch keine Resistenzen gegenüber Fosfomycin, Rifampicin und Tigecyclin gefunden

werden. Die zusätzliche Überprüfung der Empfindlichkeit gegen den Wirkstoff Mupirocin zeigte die vollkommene Abwesenheit von Mupirocinresistenz.



Oxa: Oxacillin; Mxf: Moxifloxacin; Lnz: Linezolid; Ra: Rifampicin; Te: Tetrazyklin; Tgc: Tigecyclin; Sxt: Trimethoprim; Va: Vancomycin; Tec: Teicoplanin; Gm: Gentamicin; Fa: Fusidinsäure; Fos: Fosfomycin; E: Erythromycin; Cm: Clindamycin; Cip: Ciprofloxacin; P: Penicillin; Amoxilcav: Amoxicillin/Clavulansäure; Cef: Cefuroxim; Clar: Clarythromycin; Mup: Mupirocin

Abbildung 24: Antibiotikaresistenz der MRSA der beruflich exponierten Personen in n

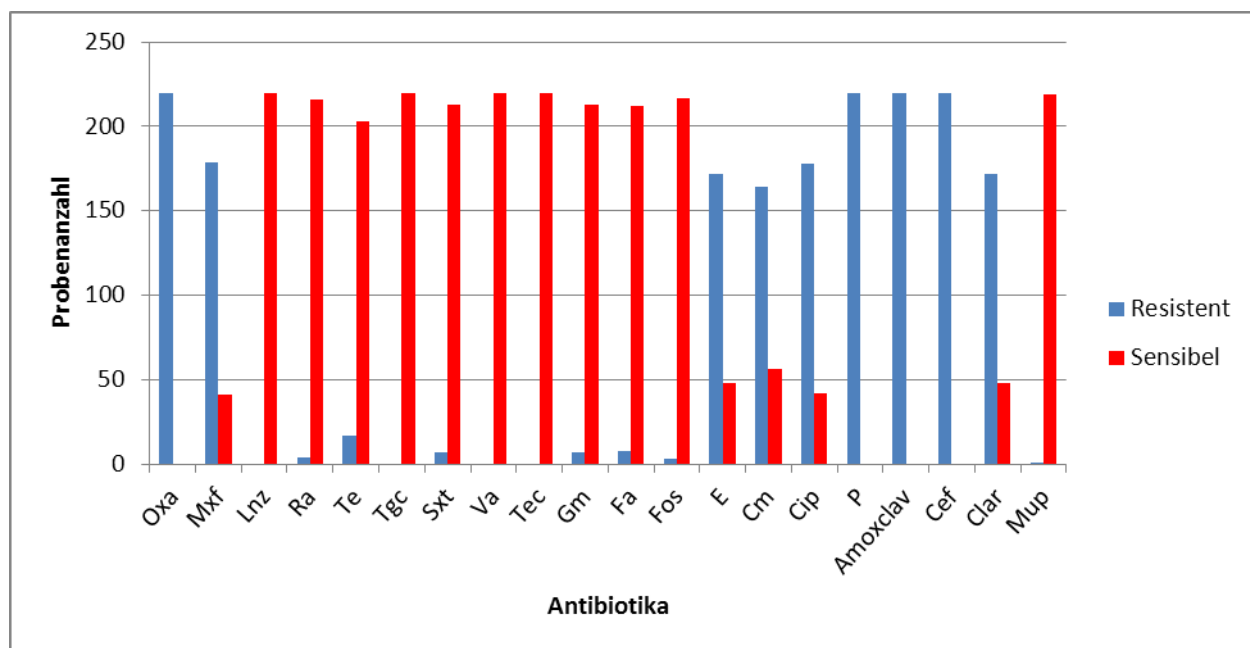
4.6.4 Resistenz gegenüber Antibiotika bei MRSA-Isolaten von Krankenhauspatienten

Es wurden aus dem Patientenreservoir des Universitätsklinikums Heidelberg 220 MRSA-Isolate gewonnen. Die MRSA-Isolate teilten sich auf in 114 Isolate von Patienten, welche nasale Träger von MRSA waren, und 106 Patienten, deren Isolate in Zusammenhang mit einer Erkrankung standen.

Die MRSA von Krankenhauspatienten waren gekennzeichnet durch eine weitreichende (80,9 %) Ciprofloxacinresistenz, die sich statistisch signifikant ($p < 0,001$) von der im Vergleich sehr niedrigen Resistenzrate von 9 % bei den Schweineisolaten abhob. Kennzeichnend war für die Isolate aus der Gruppe der Krankenhauspatienten auch eine Moxifloxacinresistenz von 81,4 %. Die Moxifloxacinresistenz bei den porcinen Isolaten war mit ca. 6 % signifikant weniger stark ausgeprägt ($p < 0,001$). Insgesamt stellte sich eine weitreichende Fluorchinolonresistenz bei den aus dem Krankenhausreservoir stammenden MRSA dar. Ferner konnte, allerdings vergleichbar mit den porcinen Isolaten, eine relativ stark ausgebaute Resistenz gegenüber Makroliden beobachtet werden. Die MRSA aus der Gruppe der Patienten zeigten eine Resistenz gegenüber Erythromycin und Clarythromycin in 78,18 %. Im Bereich der schon bei den Veterinärisolaten festgestellten Resistenz lag mit 74,5 % die

Ergebnisse

Clindamycinresistenz der Krankenhaus-assoziierten MRSA. Die Isolate aus der gesamten Gruppe der veterinärmedizinischen MRSA trugen eine umfassende Tetrazyklinresistenz. Im Gegensatz hierzu konnten im humanmedizinischen Probenaufkommen keine weitverbreiteten Resistenzen festgestellt werden. Die Tetrazyklinresistenz lag hier bei 7,7 %, der Unterschied zwischen den beiden MRSA-Reservoirs in Bezug auf Tetrazyklin war statistisch signifikant ($p < 0,001$). Desweiteren lag die Gentamicinresistenz der Patientenisolates mit ca. 3 % unter den ca. 20 % der porcinen Isolate ($p < 0,001$). Ebenso wurde in den porcinen MRSA mit circa 50 % eine relativ weitreichende Trimethoprimresistenz festgestellt. Die Trimethoprimresistenz fiel im Unterschied hierzu in der Gruppe der krankenhaussassoziierten MRSA mit nur 3,2 % deutlich geringer aus ($p < 0,001$). Reservoirübergreifend war die Fusidinsäureresistenz schwach ausgeprägt. Die MRSA der Krankenhauspatienten waren in dem sehr geringem Umfang von 3,6 % Träger einer Fusidinsäureresistenz. Geringe Resistenzraten konnten auch bei Rifampicin mit 1,8 % und Fosfomycin mit 1,36 % festgestellt werden. Die gegen MRSA als Reserveantibiotika eingesetzten Wirkstoffe Tigecyclin, Vancomycin und Teicoplanin wiesen im Antibiogramm keine Resistenzen auf. Eine Mupirocinresistenz konnte nur in einem einzigen Krankenhauspatientenisolat gefunden werden. Es handelte sich hierbei um einen nasalen Träger von MRSA.



Oxa: Oxacillin; Mxf: Moxifloxacin; Lnz: Linezolid; Ra: Rifampicin; Te: Tetrazyklin; Tgc: Tigecyclin; Sxt: Trimethoprim; Va: Vancomycin; Tec: Teicoplanin; Gm: Gentamicin; Fa: Fusidinsäure; Fos: Fosfomycin; E: Erythromycin; Cm: Clindamycin; Cip: Ciprofloxacin; P: Penicillin; Amoxclav: Amoxicillin/Clavulansäure; Cef: Cefuroxim; Clar: Clarythromycin; Mup: Mupirocin

Abbildung 25: Antibiotikaresistenz der MRSA der Krankenhauspatienten in n

4.7 Resistenzgene

4.7.1 Resistenzgene bei MRSA-Isolaten vom Schwein

Das Auftreten der Resistenzgene ist Abbildung 26 zu entnehmen. In nahezu allen MRSA-Isolaten wurden die β -Laktamresistenzgene *blaZ/blaI/blaR* (99 %, 99 %, 96 %) nachgewiesen. Hinsichtlich der Tetrazyklinresistenzgene war in 99,2 % der Isolate *tetEfflux* vertreten, dicht gefolgt von *tetM* mit 93,2 % und *tetK* mit 63 %. Die Nachweisraten für Tetrazyklinresistenzgene lagen hierbei bei den Schweineisolaten deutlich höher als bei den MRSA-Isolaten der Krankenhauspatienten. Im Hinblick auf die Nachweishäufigkeit der Tetrazyklinresistenzgene heben sich die Schweineisolate mit einem höheren Auftreten von *tetK* von den Umgebungsprobenisolaten und den Nachweisraten in den Isolaten der Landwirte und Veterinäre ab. Neben Genen für die β -Laktam und Tetrazyklinresistenz wurde auch das Auftreten von weiteren Resistenzgenen beobachtet. Es konnten die Gene *ermB* in 38,3 %, *ermA* in 29,3 % und *ermC* in 12,7 % der porcinen Isolate nachgewiesen werden. Es konnten aber *mefA* und *msrA* nicht in den Schweineisolaten identifiziert werden. Die Gene *aadD* und *aacA-aphD* lagen in 13,5 % bzw. in 11,2 % der Isolate vor. Die Isolate, welche eine Fosfomycinresistenz zeigten, sind nicht Träger der festgestellten drei *fosB*-Gene. Die Resistenzgene *vanA/vanB/vanZ* und auch *mupA* konnten innerhalb der untersuchten porcinen MRSA-Isolate nicht gefunden werden.

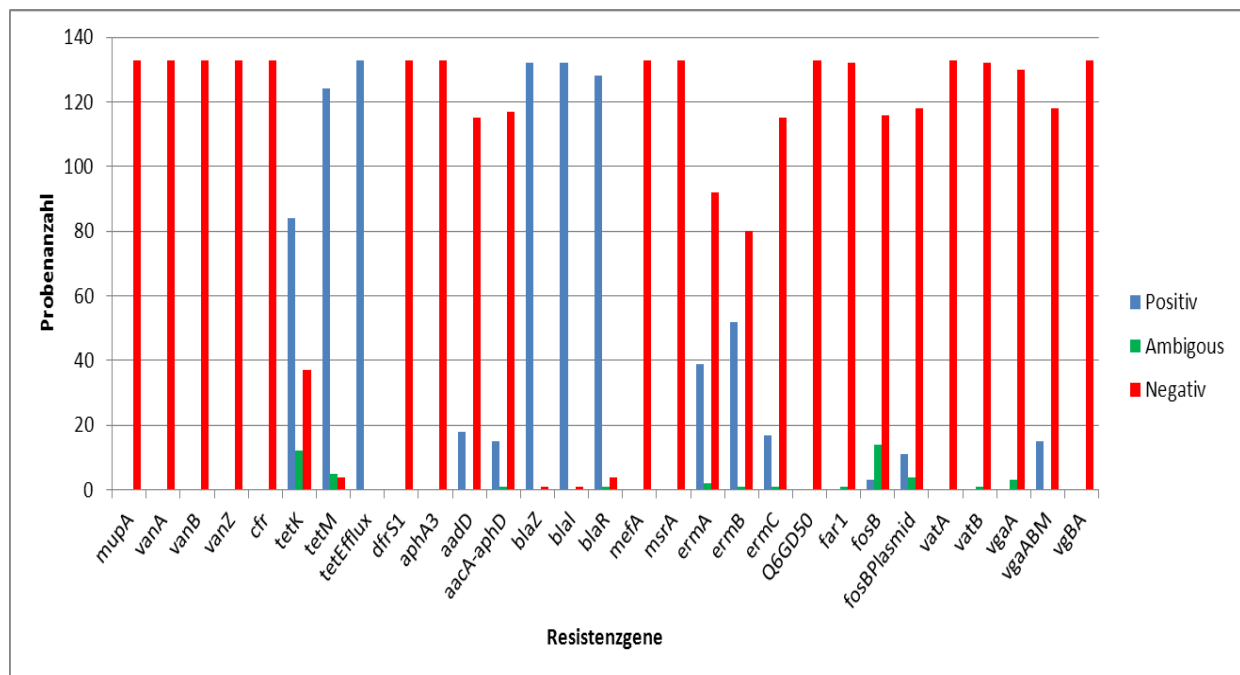


Abbildung 26: Antibiotikaresistenzgene der MRSA aus dem Schweinereservoir in n

4.7.2 Resistenzgene in MRSA-Isolaten der Umgebungsproben

Ergebnisse

Die Resistenzgene *blaZ/blaI* und *blaR* lagen in 100 %, 97 % und 87 % der Proben vor. Die Umgebungsproben aus den Schweinestallungen waren hinsichtlich der bei ihnen nachgewiesenen Tetrazyklinresistenzgene nahezu deckungsgleich mit den porcinen Isolaten. Die Gene *tetM* und *tetEfflux* traten mit 87,5 % und 96,8 % fast gleichhäufig auf wie bei den Schweineisolaten mit 93,4 % und 99,2 %. Allerdings liegt bei *tetK* ein signifikanter Unterschied mit 37,5 % in den Umgebungsproben zu 63 % bei den porcinen Isolaten vor ($p = 0,01$). Ebenfalls häufig war der Nachweis von *erm*-Genen. Die Gene *ermA* und *ermB* bewegten sich mit 25 % bzw. 34,3 % im Bereich der Schweineisolate mit 29,3 % bzw. 38,3 %. Lediglich *ermC* konnte in 31,2 % der untersuchten Isolate deutlich häufiger als in den Schweineisolaten mit 12,7 % gefunden werden ($p = 0,024$). Die Aminoglycosidresistenzgene *aadD* und *aaCA-aphD* wurden in nur 12,5 % bzw. 21,8 % der Isolate aufgefunden, das Gen *aphA3* in keinem untersuchten MRSA-Isolat. Fosfomycinresistenzgene konnten nur in einem einzelnen Fall bzgl. *fosB* identifiziert werden. Auch bei den Umgebungsisolaten, wie schon bei den porcinen MRSA, fiel der Nachweis eines Mupirocinresistenzgens, wie zuvor schon die Resistenztestung, negativ aus. Im Unterschied zu den porcinen Isolaten jedoch konnte das Auftreten von je einmal *msrA*, *vata*, *vgaA*, *vanZ*, *cfr* beobachtet werden. Hierbei fiel auf, dass ein einzelnes Isolat gleichzeitig Träger von *vanZ*, *cfr*, *msrA*, *fosB* und *vata* war. Es handelte sich hierbei um einen MRSA CC398 atypischer SCCmec aus einem niedersächsischen Betrieb, dieser konnte nicht näher identifiziert werden.

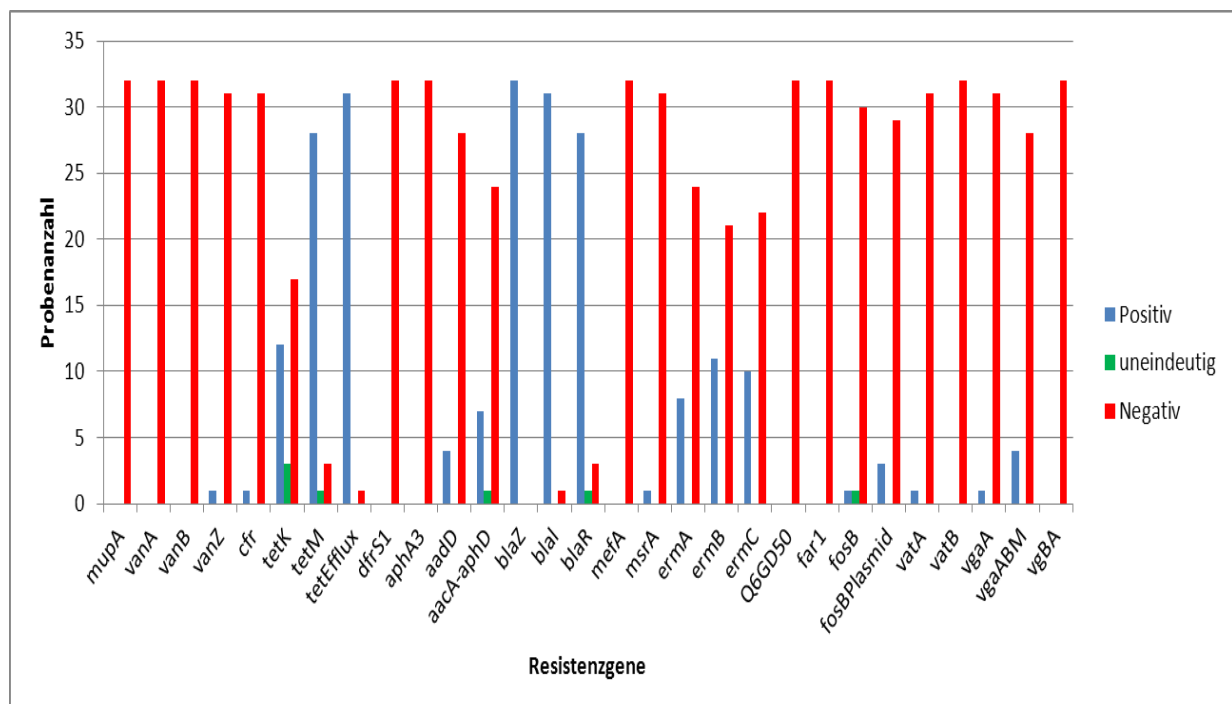


Abbildung 27: Antibiotikaresistenzgene der MRSA aus der Stallumgebung in n

4.7.3 Resistenzgene der MRSA-Isolate bei den beruflich exponierten Personen

Die MRSA-Isolate der Gruppe der beruflich exponierten Personen zeigte die für MRSA kennzeichnende β -Laktamresistenz auch anhand der in fast allen Isolaten auftretenden Resistenzgene *blaZ* (100 %), *blaI* (96,8 %) und *blaR* (87,5 %). Wie auch die untersuchten MRSA aus den Nasentupfern der Schweine und die Umgebungsproben wiesen die MRSA des exponierten Personenkreises Tetrazyklinresistenzgene auf. Die Gene *tetM* (87,5 %) und *tetEfflux* (96,8 %) lagen in vergleichbarem Bereich mit den zuvor erwähnten Isolaten. Lediglich *tetK* war mit einer Rate von 25 % im Vergleich zu z.B. 63,1 % bei den porcinen MRSA signifikant weniger verbreitet ($p = 0,002$). Die Gruppe der *erm*-Gene war bzgl. *ermA* und *ermB* mit jeweils 31,2 % Häufigkeit ähnlich verbreitet wie bei den Umgebungs- und Tierisolaten. Hingegen war *ermC* mit 28,1 % häufiger bei den exponierten Personen anzutreffen als bei den Schweinen mit 12,8 %.

Bei den Umgebungsisolaten konnte ein ungewöhnlich ausgestatteter MRSA CC398 identifiziert werden, als Träger diverser, sonst nicht in der Gruppe vorkommender, Resistenzgenkombinationen. Solch ein Isolat wurde auch in den Isolaten der hier genannten Gruppe aufgefunden. Es handelte sich hierbei um einen LA-MRSA CC398 der nicht weiter klassifiziert werden konnte. Er trug die Resistenzgene *vanZ*, *cfr*, *msrA*, *vata* sowie *fosB*. Allerdings stand dieses Isolat nicht in direktem Zusammenhang mit dem niedersächsischen Umgebungsprobenisolat weiter oben. In diesem Fall handelte es sich um einen Studenten, welcher einen Bestandsbesuch in Hessen begleitete. Obschon entsprechende Resistenzgene vorliegen, war im Antibiotogramm keine Resistenz gegenüber z.B. Vancomycin oder Fosfomycin feststellbar.

Wie auch bei den anderen MRSA-Isolaten wurde bei dem Personenkreis mit beruflichem und regelmäßigem engem Tierkontakt kein Vorliegen von *mupA* und hiermit einer Mupirocinresistenz festgestellt. Die Resistenzgene *vanA*, *vanB*, *dfrS1*, *aphA3*, *mefA*, *Q6GD50*, *farI*, *vatB*, *vgaA* und *vgBA* konnten nicht beobachtet werden. Auch nicht beobachtet werden konnte das Gen *aacA-aphD*, welches allerdings bei MRSA der Schweine und in der Stallumgebung der Tiere aufgefunden werden konnte. Das Gen *aadD* wurde in vergleichbaren Zahlen nachgewiesen wie bei den Tieren und dem Stallstaub.

Ergebnisse

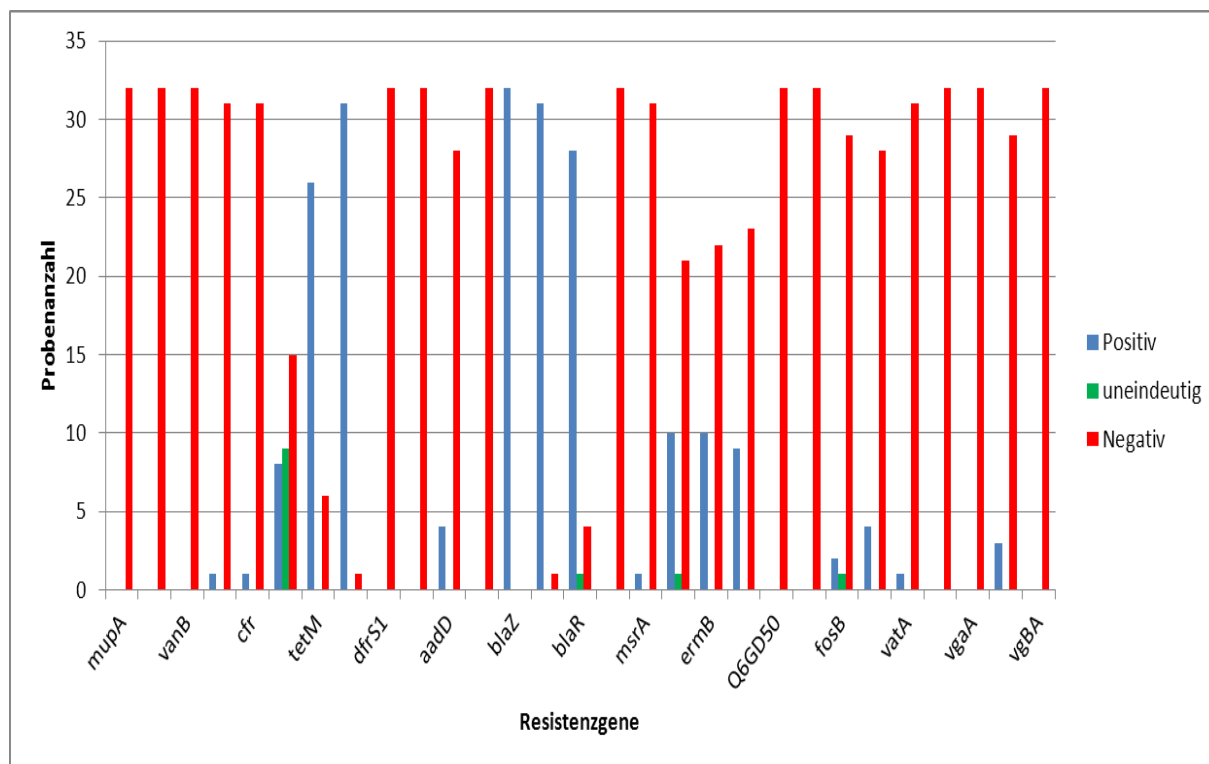


Abbildung 28: Antibiotikaresistenzgene der MRSA der beruflich exponierten Personen in n

4.7.4 Resistenzgene der MRSA-Isolate in der Gruppe der Krankenhauspatienten

Die drei Gene *blaZ/blaI* und *blaR* konnten in jeweils ca. 84 % der 126 Patientenisolat aufgefunden werden. Sie liegen damit leicht niedriger als die nahezu 100 % Nachweisrate bzgl. *blaZ* und *blaI* bei den veterinärmedizinischen Isolat. Im Vergleich der Antibiotikaresistenzen fiel der Unterschied in der Tetrazyklinresistenz zwischen den Veterinärisolat und den Krankenhausisolat auf. Vergleichbar hierzu waren auch die Resistenzgene *tetK* und *tetM* mit 7,9 % bzw. 3,2 % in erheblich geringerer Anzahl vertreten als z.B. bei den Schweineisolat mit 63,1 % (*tetK*) und 93,2 % (*tetM*). Die Unterschiede bezüglich *tetK* und *tetM* waren statistisch signifikant ($p < 0,001$). Allerdings war *tetEfflux* in 85 % der Krankenhauspatientenisolat aufgefunden worden. Ein weiterer Unterschied zwischen dem humanen und porcinen Reservoir stellte die Verbreitung des Fosfomycinresistenzgens *fosB* dar. Während in den MRSA-Isolat vom Schwein, der Stallumgebung und den beruflich mit Schweinen arbeitenden Personen nur in Einzelfällen (insgesamt sechs positive Isolat) *fosB* detektiert werden konnte, war *fosB* bei den Krankenhauspatienten in 75 % der Isolat vertreten und damit im Vergleich signifikant häufiger nachgewiesen worden ($p < 0,001$). Die MRSA der Krankenhauspatienten waren zu 62 % mit dem Gen *ermA* ausgestattet. Im Vergleich hierzu lagen die porcinen Isolat mit ca. 30 % *ermA*, jedoch mit dem weiteren Auftreten von *ermB* und *ermC*, unter der Nachweisrate

für die humanen MRSA. Die MRSA der Patienten zeigten keine *ermB* oder *ermC* Gene. Das Gen *aadD* konnte bei den Krankenhausisolaten in 32 % der MRSA aufgefunden werden, bei den porcinen MRSA in nur 13,5 % der untersuchten Keime. Ferner lag in ca. 7 % der HA-MRSA das Gen *aphA3* vor. In der Gruppe der Krankenhauspatienten traten *farI* einmal auf (MRSA CC80 SCCmec IV PVL+) und *Q6GD50* bei drei Patientenisolaten (zwei MRSA CC5 SCCmec IV „Maltese clone“ und ein nicht weiter bestimmbarer MRSA CC22). Jedoch fand sich lediglich bei dem MRSA CC80 mit dem Resistenzgen *farI* eine messbare Fusidinsäureresistenz im dazugehörigen Antibiotogramm.

Im Gegensatz zu den porcinen MRSA-Isolaten konnte hier in einem einzelnen Isolat der Nachweis von *mupA* erbracht werden. Das Auftreten von *mupA* war gekoppelt an die Resistenz gegenüber Mupirocin im Antibiotogramm. Es handelt sich hierbei um einen MRSA CC5 ST5/ST225 SCCmec II des „Rhine-Hesse“ Epidemiestammes. Die Gene *vanA*, *vanB* sowie *vanZ* konnten nicht nachgewiesen werden. Ebenfalls wurden *cfr* und die Resistenzgene *vatA*, *vatB*, *vgaA* und *vgBA* nicht beobachtet.

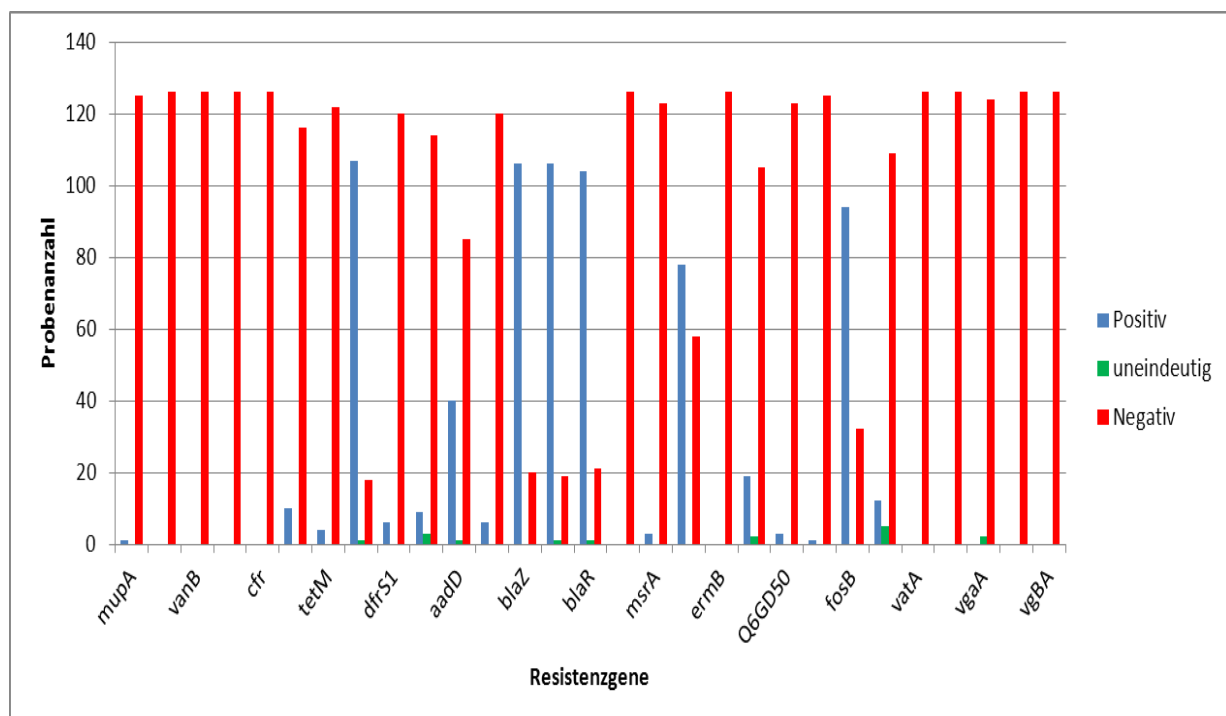


Abbildung 29: Antibiotikaresistenzgene der MRSA der Krankenhauspatienten in n

4.8 Panton-Valentine-Leukozidin

Alle genotypisierten 323 MRSA-Isolate wurden auf das Vorhandensein von PVL überprüft. Im veterinärmedizinischen Reservoir konnte das PVL in keinem MRSA-Isolat gefunden werden. In der Gruppe der Krankenhauspatienten konnte das PVL siebenmal nachgewiesen werden. Hier lag der Schwerpunkt deutlich bei der Subgruppe der nasal mit MRSA

Ergebnisse

kolonisierten Patienten ohne MRSA-assoziierte Erkrankung. Weist man die aufgefundenen PVL-positiven Isolate MLST-Typen zu, so fand sich das PVL in vier Fällen bei verschiedenen Subtypen des MRSA CC8 (dreimal bei ST8 SCCmec IV USA300), in zwei Fällen bei CC5 (CC5 SCCmec IV pädiatrischer Klon) und in einem Fall bei CC80 (CC88 SCCmec IV).

4.9 Desinfektionsmittelresistenzgene

Die MRSA-Isolate wurden im Zuge ihrer Genotypisierung auf die Resistenzgene *quacA* und *quacC* untersucht. Es konnten in der Gruppe der Veterinärisolate weder *quacA* noch *quacC* gefunden werden. In der Gruppe der Krankenhausisolate wurden in fünf Fällen *quacA*, was 4,0 % der untersuchten MRSA-Isolate entspricht, und in acht Fällen *quacC*, 6,3 % der genotypisierten Patientenisolate, aufgefunden. Die Isolate, welche Träger von *quac*-Genen waren, waren mit überwiegender Mehrheit CC5 zuzuordnen, genauer CC5 ST5/ST225 SCCmec II „Rhine-Hesse“. Die beiden *quacC*-Träger der MRSA CC8, wurden als CC8 SCCmec IV „Lyon-Clone“ identifiziert. Ein weiterer MRSA wurde CC22 zugeordnet, konnte aber nicht weitergehend eingeteilt werden. Ein einzelnes MRSA-Isolat war mit beiden *quac*-Genen ausgestattet. Hierbei handelte es sich um einen MRSA CC5 ST5/ST225 SCCmec II „Rhine-Hesse“.

Tabelle 7: Verteilung der Qac-Gene auf die verschiedenen MLST-Typen der untersuchten MRSA-Isolate

	qacA		qacC	
	positiv	negativ	positiv	negativ
	Anzahl	Anzahl	Anzahl	Anzahl
MLST CC aff. CC398	0	200	0	200
CC45 (agr1)	0	2	0	2
CC5	5	74	5	74
CC22	0	18	1	17
CC1	0	3	0	3
CC8 (ST239)	0	1	0	1
CC8	0	14	2	12
CC80	0	1	0	1
CC6	0	2	0	2
CC80	0	1	0	1
CC49	0	0	0	0
CC8 (ST72)	0	1	0	1
CC97	0	0	0	0
CC133/ST2111	0	0	0	0

4.10 MLST-Typisierung

Insgesamt wurden 323 MRSA-Isolate aller Gruppen mit dem MicroArray-System (Fa. Alere) analysiert. Die Gesamtverteilung der MLST-Typen ist in dem Kuchendiagramm in Abbildung 30 zu sehen.

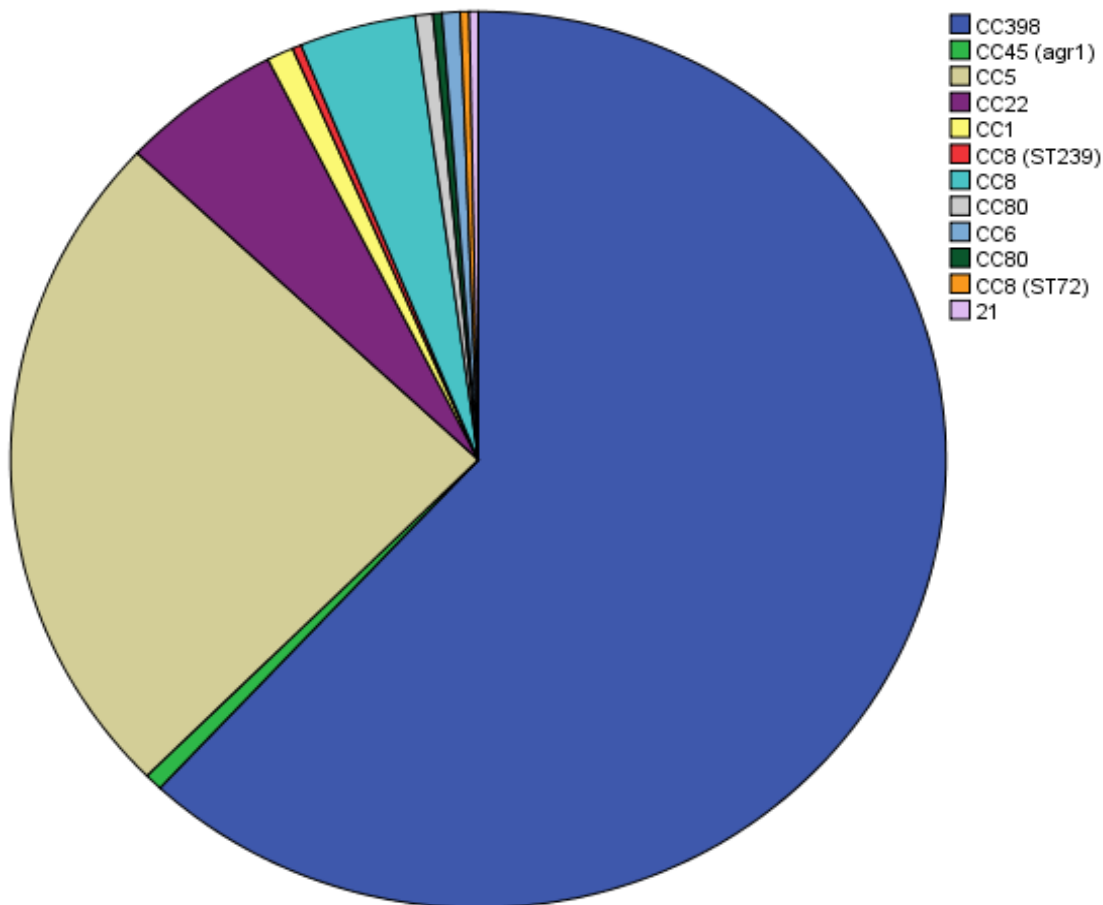


Abbildung 30: Verteilung der 323 genotypisierten MRSA-Isolate auf MLST-Typen

4.10.1 Schweine

Von den 166 porcinen MRSA-Isolaten konnten 133 Isolate mittels MicroArray genotypisiert werden. Hierbei wiesen 99,25 % der untersuchten porcinen Isolate den MLST 398 auf. In einem einzigen Fall kam es im System zu einer Fehlermeldung, das Untersuchungsgerät wies dem Isolat die Bezeichnung „21“ zu. Betrachtet man die zugehörigen SCCmec-Typen, so zeigten die porcinen MRSA vier unterschiedliche Ergebnisse. Der Großteil der MLST 398 mit 84,8 % gehörte zu dem SCCmec-Typ V. MLST 398 SCCmec-Typ IV war mit 6,8 % der zweithäufigste. Daneben konnten 5,3 % zwar dem klonalen Komplex 398 zugeordnet werden,

Ergebnisse

allerdings ohne die Möglichkeit sie einem SCCmec-Typ zuzuordnen. Desweiteren lag in 3,78 % der porcinen Proben der CC398-MRSA-truncated/atypical SCCmec vor.

4.10.2 Stallumgebung

Es wurden von den 77 MRSA-positiven Stallumgebungsproben 32 der Untersuchung mit dem MicroArray unterzogen. Bei 100 % der MRSA-Isolate wurde der MLST 398 festgestellt. Somit stimmte das Auftreten von LA-MRSA CC398 in der Stallumgebung mit dem bei den Schweinen vorliegenden MRSA-Typ überein. Im Hinblick auf die SCCmec-Typisierung ließen sich in 75 % der Fälle MLST 398 SCCmec Typ V, in 12,5 % der Fälle MLST 398 SCCmec Typ IV nachweisen. Nicht näher bestimmt werden konnten 9,375 %, welche allerdings auch zum CC398 gehören. Ein einzelnes Isolat, damit 4 % der Umgebungs isolate, wies den CC398-MRSA-truncated/atypical-Typ auf. Auch die Verteilung der SCCmec-Typen deckte sich weitestgehend mit den Ergebnissen der Schweineisolate. Dort wurde ebenfalls als vorherrschender SCCmec-Typ SCCmec V identifiziert, gefolgt von SCCmec IV.

4.10.3 Exponierter Personenkreis

Aus dem exponierten Personenkreis lagen 39 MRSA-Isolate vor. Hiervon wurden 32 Isolate für die Genotypisierung ausgewählt. Die Untersuchungen zeigten in 100 % der MRSA-Isolate die Zugehörigkeit zu CC 398. Dies stimmte mit den MRSA-Isolaten aus den Schweinestallungen und den Nasentupfern der Tiere überein. Bei der Bestimmung der SCCmec-Typ Zugehörigkeit wurde festgestellt, dass die überwiegende Mehrheit der Isolate, 90,6 %, dem MLST 398 SCCmec Typ V zuzuordnen war, genau wie auch bei porcinen MRSA und dem Stallstaub. Des Weiteren wurden, ebenfalls vergleichbar mit den Tieren und ihrer Stallumgebung, 6,25 % der Isolate dem MLST 398 SCCmec Typ IV zugeteilt. Keinem SCCmec-Typ zugewiesen werden konnten 3,125 % der Isolate.

4.10.4 Krankenhauspatienten

Neben den Isolaten mit direkt veterinärmedizinischem Bezug wurden auch 126 MRSA-Isolate von Krankenhauspatienten genotypisiert. Die humanmedizinischen Isolate erfuhren die Einteilung in Isolate von Patienten mit eindeutiger Erkrankung („infizierte Patienten“) und Isolate, welche von Patienten stammen, die lediglich eine nasale Kolonisation mit MRSA aufwiesen, jedoch keine erkennbare Erkrankung in Zusammenhang mit MRSA („kolonisierte Patienten“). Im Zuge der Genotypisierung wurden 58 Isolate infizierter Patienten und 68 Isolate kolonisierter Patienten untersucht. Die häufigste in der Gruppe der

Krankenhauspatienten nachgewiesene MLST-Zugehörigkeit war CC5 (62,7 %). Die beiden Gruppen CC22 (14,3 %) und CC8 (10,3 %) folgten als zweit-/ bzw. drittgrößte Gruppierung. Der mit LA-MRSA und Schweinen assoziierte CC398 lag in vier Fällen vor (3,2 %) (Abbildung 31). Teilte man die Patienten in die beiden Untergruppen „infiziert“ und „kolonisiert“ auf, so ergab sich ein vergleichbares Ergebnis bei beiden Subgruppen bezüglich der MLST-Typen. Bei den „infizierten“ Patienten konnten 62 % dem vorherrschenden CC5 zugewiesen werden, 15 % ließen sich CC22 und 12 % CC8 zuweisen. Die „kolonisierten“ Patienten zeigten in 63 % der untersuchten MRSA den Typ CC5, in 13,2 % CC22 und in 8,8 % CC8. Insgesamt ließ sich eine relativ vergleichbare Verteilung der MRSA über die verschiedenen MLST-Typen erkennen. Es fiel allerdings auf, dass in der Gruppe der „kolonisierten“ Patienten drei LA-MRSA CC398 nachgewiesen werden konnten, wohingegen innerhalb der Subgruppe der „infizierten“ Krankenhauspatienten LA-MRSA CC398 in nur einem einzelnen Patientenisolat identifiziert wurde.

Betrachtete man die MRSA hinsichtlich ihrer Zugehörigkeit zu den Subgruppen der HA-MRSA (z.B. CC5, CC22 und CC45) und der CA-MRSA (CC8 ST8 USA300, CC80), so traten die HA-MRSA in der Gruppe der Patientenisolat im Unterschied zu den CA-MRSA signifikant häufiger auf ($p < 0,001$).

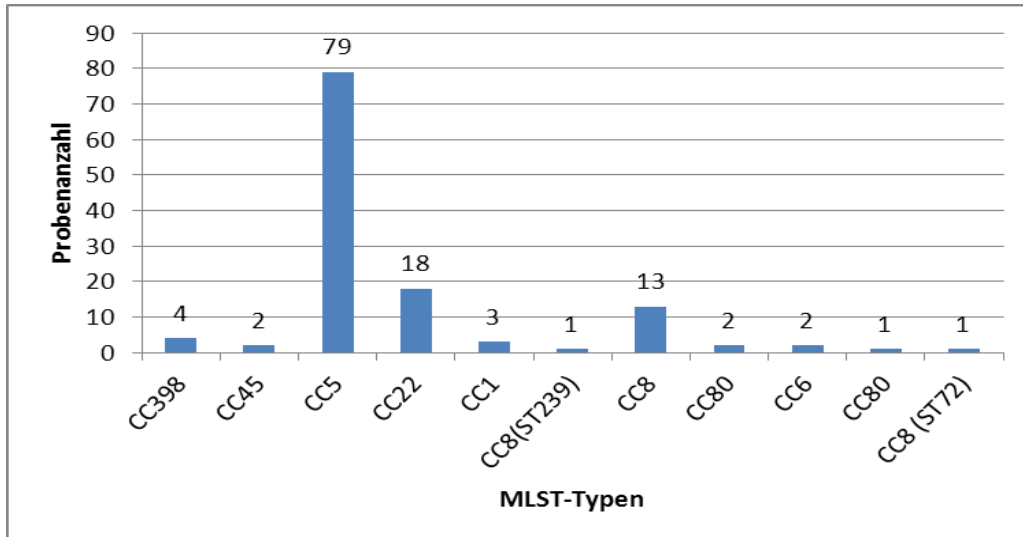


Abbildung 31: Verteilung der MLST-Typen in der Gruppe der Krankenhauspatienten

Ergebnisse

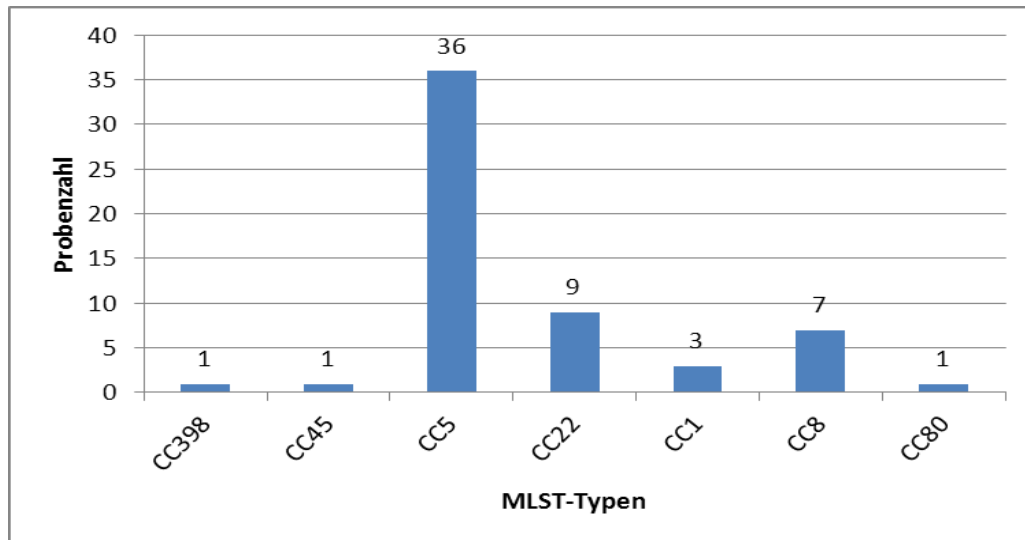


Abbildung 32: Verteilung der MLST-Typen in der Subgruppe der infizierten Patienten

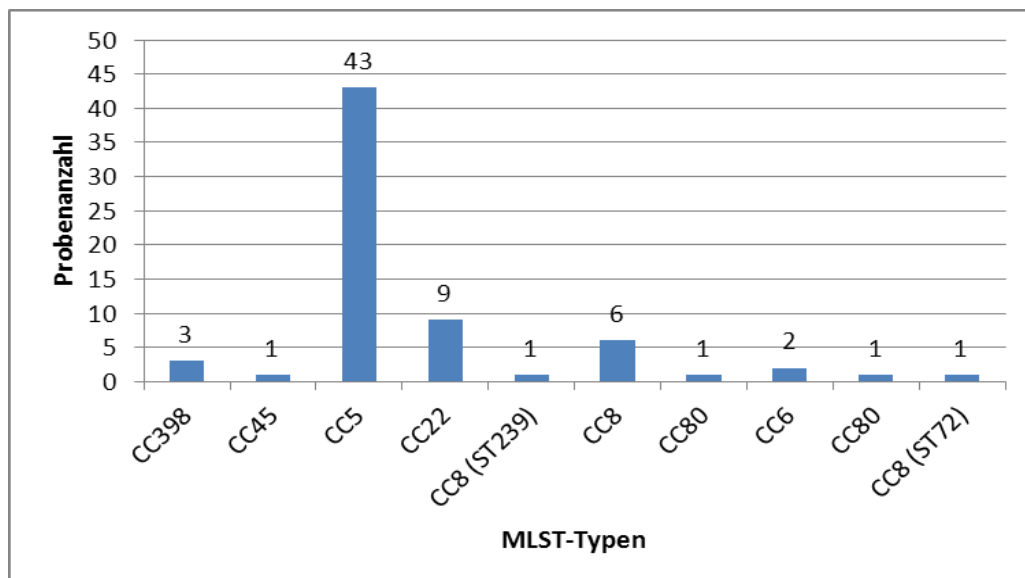


Abbildung 33: Verteilung der MLST-Typen in der Subgruppe der kolonisierten Patienten

Die weiterführende Einteilung der untersuchten Isolate im Hinblick auf ihre Zugehörigkeit ist in den beiden Abbildungen 32 und 33 dargestellt. In der Gruppe der „infizierten“ Patienten herrschte der CC5 ST5/ST225 „Rhine-Hesse“ Epidemiestamm mit SCCmec-Typ II vor (53,44 %), gefolgt von dem „barnim“ Epidemiestamm mit SCCmec-Typ IV (8,62 %) und dem „Lyon-Clone“ SCCmec-Typ IV (8,62 %). Die „kolonisierten“ Patienten wiesen in 54,4 % der genotypisierten Isolate ebenfalls den „rhine-hesse“ SCCmec-Typ II auf. Der „barnim“ SCCmec IV konnte in 8,8 % der MRSA-Isolate gefunden werden.

Der LA-MRSA CC398 aus der Gruppe der „infizierten“ Patienten wurde dem „CC398-MRSA (truncated/atypical SCCmec)“ zugeordnet. Bei den LA-MRSA CC398 der „kolonisierten“ Patienten war in zwei der drei Isolate eine genaue Einordnung möglich. Sie gehörten zu dem SCCmec-Typ V. Der MRSA CC398 SCCmec V war im Schweinereservoir

als der dominante MRSA identifiziert worden. Der verbleibende LA-MRSA CC398 konnte nicht zugeordnet werden.

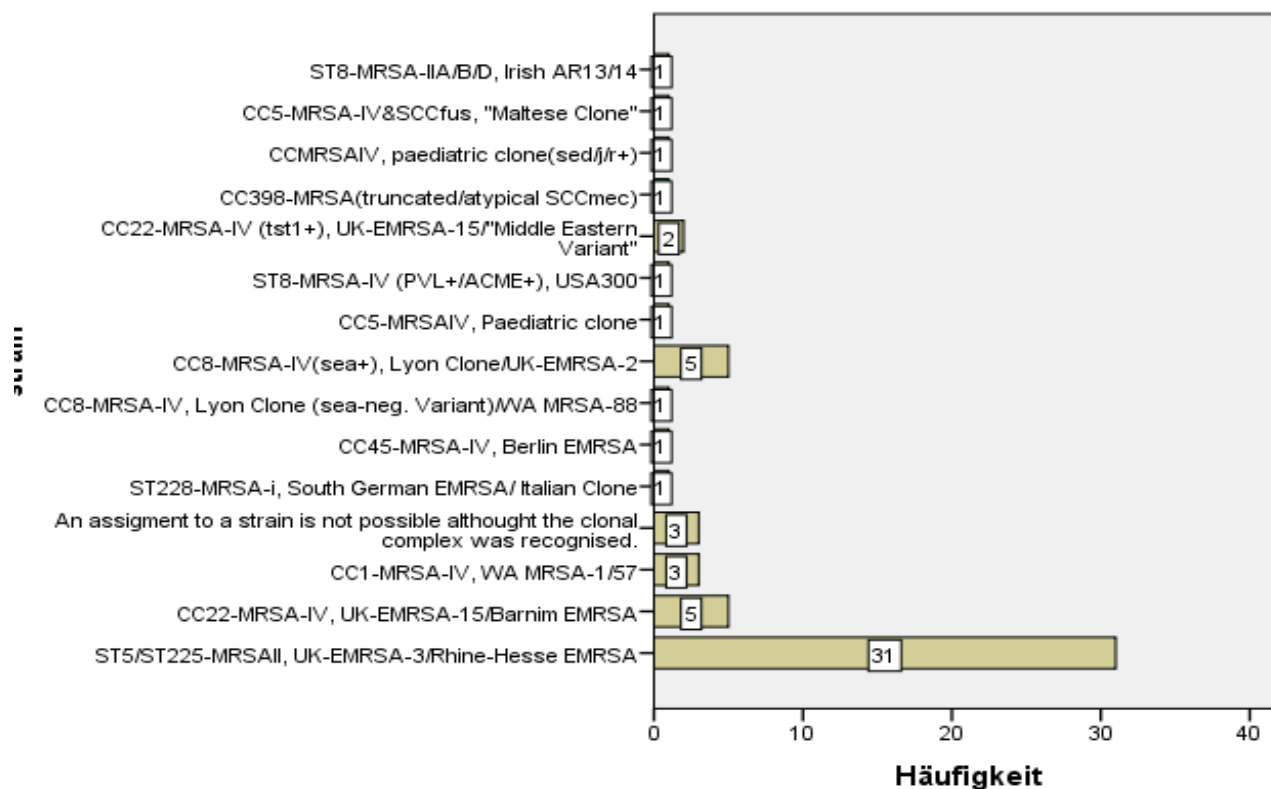


Abbildung 34: Verteilung der SCCmec-Typen in der Subgruppe der infizierten Patienten

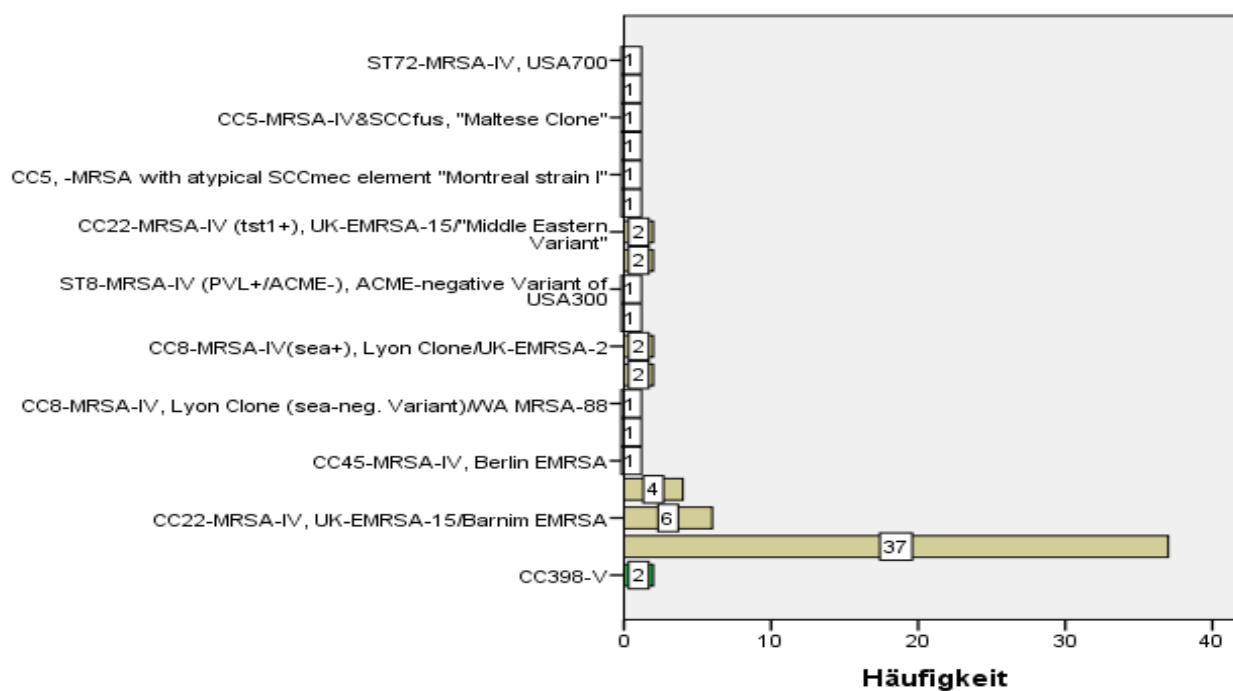


Abbildung 35 : Verteilung der SCCmec-Typen in der Subgruppe der kolonisierten Patienten

5 Diskussion

5.1 MRSA-Prävalenz in den Beständen

Die im Rahmen der vorliegenden Studie durchgeführte Untersuchung von 27 Schweinehaltungsbetrieben, in 28 Bestandsbesuchen, inklusive Umgebungsproben und Tierproben, führte bei 23 Betrieben zum Nachweis von MRSA. Dies entspricht einer Bestandsprävalenz von insgesamt 85,18 %.

Vergleicht man die hier nachgewiesene Bestandprävalenz mit weiteren Studien, so ist sie im oberen Bereich anzuordnen. Eine niederländische Studie aus dem Jahre 2008 wies in sieben von 31 Beständen MRSA nach, also in 23 % der untersuchten Betriebe (van Duijkeren et al., 2008). Auch in Deutschland durchgeführte Studien kamen zum Teil zu einer niedrigeren Prävalenz. So lag die Bestandsprävalenz bei der Untersuchung von Schweinebetrieben in Nordwestdeutschland bei nur 18 % (Meemken et al., 2008). Deutlich höhere Nachweise erbrachte die Untersuchung bayrischer Schweinebetriebe. Hier lag die Bestandsprävalenz bei 45 % (Frick, 2010). Ebenfalls zu relativ hohen Ergebnissen gelangte die Überprüfung von Schweinebeständen im deutsch-holländischen Grenzgebiet. Hier konnte eine Bestandsprävalenz von 70 % ermittelt werden (Kock et al., 2009).

Die Bestandsprävalenz scheint allerdings stark von der Nutzungsausrichtung der jeweiligen Schweinebetriebe dominiert zu sein. Zwar wurde in der hier vorliegenden Studie keine Unterscheidung und gesonderte Betrachtung der jeweiligen Haltungs- bzw. Nutzungsform angestrebt, doch zeigt die Literatur relativ deutliche Ergebnisse. In einer Untersuchung von biologisch wirtschaftenden Betrieben hinsichtlich der Verbreitung von MRSA wurde eine im Vergleich mit konventionellen Betrieben deutlich niedrigere Prävalenz festgestellt (Heine, 2011). Dies korreliert mit dem negativen MRSA-Nachweis in dem in diese Studie aufgenommenen einzelnen biologischen Schweinehaltungsbetrieb.

Auch die Kombination von Tierproben und dem Screening der Tierumgebung durch z.B. Sockentupfer und Staubproben, wie in dieser Studie durchgeführt, mag zu einem vergleichsweise besseren Nachweiserfolg führen als reine Nasentupferproben. So wurde in der Untersuchung von MRSA in bayrischen Beständen nur auf die Beprobung der Tiere zurückgegriffen und eine deutlich niedrigere Bestandsprävalenz festgestellt (Frick, 2010).

Die Überlegung, dass ein kombinierter Beprobungsgang eher zu einem verlässlichen MRSA-Nachweis führen kann, wird von den hohen Nachweisquoten von Broens et al. (2011) gestützt. Man kombinierte Nasen- und Umgebungsproben und wies so z.B. in bis zu 71 % der Betriebe MRSA nach (Broens et al., 2011).

5.2 MRSA-Prävalenz der Schweine

Bei den Nasentupferproben der Schweine konnte insgesamt eine Prävalenz von 50,3 % festgestellt werden, wobei die Sauen mit 25 % die niedrigste und die Mastschweine mit 59 % die höchste MRSA-Nachweisrate erbrachten.

Setzt man die hier dargestellten Werte mit bisherigen MRSA-Prävalenzstudien ins Verhältnis, so liegen sie im mittleren Bereich. Verschiedene Studien mit unterschiedlichem Studienaufbau ermittelten eine sehr weite Bandbreite an MRSA-Prävalenzen von unter 20 % bis hin zu 70 % MRSA-positiven Tieren. Vor allem die Untersuchung für den Schlachthof bestimmter Tiere zeigte sehr hohe Prävalenzen (Morcillo et al., 2012; Tenhagen et al., 2009). Die kanadische These, dass kein Unterschied zwischen den unterschiedlichen Altersgruppen innerhalb der Schweinepopulation besteht, kann hier widerlegt werden (Khanna et al., 2008). Die Verteilung der MRSA-Prävalenz, v.a. unter der Gruppe der Sauen, divergiert sichtbar von Altersgruppe zu Altersgruppe. Dies deckt sich mit den in der jüngeren Vergangenheit gemachten Beobachtungen in deutschen Studien (Brockers, 2011; Frick, 2010; Heine, 2011; Meyer, 2011). So konnte mehrfach gezeigt werden, dass die Prävalenz bei Sauen in einem mit dieser Arbeit vergleichbar „niedrigen“ Bereich von circa 25 % lag (Crombe et al., 2012; Frick, 2010). Es wird wechselnd von einer einerseits höheren Prävalenz bei Ferkeln und Absetzern und andererseits von einer höheren Prävalenz bei Mastschweinen berichtet. Ein deutlicher, prägnanter Unterschied zwischen den beiden Gruppierungen kann durch die von uns festgestellten Prävalenzdaten nicht bestätigt werden. Auch in anderen Untersuchungen liegen die dort eruierten MRSA-Prävalenzen zum Teil hinsichtlich der Masttiere und Ferkel relativ eng beieinander. So wurden zum Beispiel für Endmasttiere 35,6 % und für Ferkel 37,6 % festgestellt (Frick, 2010). Auch die Nutzungsrichtung der Betriebe als Aufzucht- oder Mastbetrieb mit entsprechend jungen Ferkeln und Masttieren zeigen nah zueinander stehende Prävalenzzahlen, wie in einer niederländischen Studie gezeigt werden konnte (Broens et al., 2011).

5.3 MRSA-Prävalenz der Umgebungsproben

Die Umgebungsproben der Schweinestallungen setzten sich aus Staubproben, Kettenspielzeugtupferproben, Sockentupferproben und Tupferproben von Tränkenippeln zusammen. Der MRSA-Nachweis gelang in circa 50 % der untersuchten Proben, wobei die Sockentupferproben mit Abstand (75 %) die höchste Prävalenz aufwiesen.

Auch andere Studien wiesen über Umgebungsstaubproben erfolgreich MRSA nach (Alt et al., 2011; Broens et al., 2011; Friese et al., 2012; Sunde et al., 2011). Zu vergleichbaren bis leicht

Diskussion

niedrigeren Zahlen gelangten mit 55 % positiven Sockentupferproben die Arbeitsgruppe um Friese et al. Sie stellten die These auf, MRSA könnten, über die Luft übertragen, für die Besiedlung von Schweinen innerhalb einer Herde verantwortlich sein (Friese et al., 2012). Ferner stützt indirekt eine weitere Beobachtung diese These. Sunde et al. (2011) stellten bei umgebungsnegativen Stallungen auch nur negative Schweine fest. Die hier vorliegende Untersuchung zeigte allerdings in zwei Betrieben positive Umgebungsproben bei Ausbleiben eines positiven Nachweises bei den ebenfalls vor Ort untersuchten Tieren. Dies lässt einen gewissen Zweifel an der These zu. Trotzdem kann die Ausbreitung von porcinen MRSA über Stäube und eventuell darin enthaltenen Partikeln nicht abgestritten werden. Amerikanische Studien sprechen von dem MRSA-Nachweis in deutlicher Entfernung zum Stallgebäude selbst (Gibbs et al., 2006; Green et al., 2006). Vor allem der Nachweis von MRSA ST 398 in sämtlichen Formen der vorgenommenen Umgebungsproben und die relative Häufigkeit des MRSA-Nachweises untermauern die These der aerogenen Verbreitung von MRSA über „Stallluft“. Einen weiteren Ansatz liefert eine Studie der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Sie sehen in der Kontamination von Beißketten und Tränkenippeln einen entscheidenden Infektionskreislauf. Durch regelmäßigen Nutzen dieser durch bereits MRSA-positive Tiere entstehe so eine geeignete Basis für die Manifestation von MRSA in der Schweinepopulation (Fischer, 2011). Diese Überlegung bedarf sicherlich weiterer Untersuchungen, kann aber mit der hier nachgewiesenen starken Belastung von Beißketten und Tränkenippeln durch MRSA unterstützt werden.

5.4 MRSA-Prävalenz der beruflich exponierten Personen

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden bei 60,9 % der untersuchten Personen, die in regelmäßigem Kontakt zu Schweinen standen, MRSA nachgewiesen. Die Gruppe umfasste Landwirte, Tiermedizinstudenten und Tierärzte.

In der Vergangenheit wurden mehrfach Studien zum Nachweis von LA-MRSA bei Landwirten durchgeführt. Allgemein wurden niedrigere Prävalenzen ermittelt. So wurde bei Untersuchungen von Schweinehaltungsbetrieben in Belgien bei 37,8 % der Landwirte MRSA nachgewiesen (Denis et al., 2009). Im Rahmen der genannten Studie wurde ein Zusammenhang zwischen humaner MRSA-Besiedlung und dem Auftreten von MRSA bei den zugehörigen Schweinen aufgebaut. Zu ähnlich niedrigen Prävalenzen gelangten Untersuchungen in Deutschland. In bayrischen Beständen wurden 29,3 % der Landwirte als MRSA-positiv identifiziert und ein Zusammenhang zwischen MRSA-positivem Bestand und MRSA bei den Landwirten herausformuliert (Frick, 2010). Doch auch bei biologisch

wirtschaftenden Betrieben konnten 22 % der Landwirte als MRSA-positiv erachtet werden, wobei keinerlei mit *S. aureus* in Zusammenhang stehenden Erkrankungen beobachtet werden konnten (Heine, 2011). Es fiel bei der Untersuchung der Daten der hier vorliegenden Studie das gehäufte Auftreten von MRSA-positiven Landwirten bei gleichzeitigem Auftreten von MRSA im Betrieb selbst auf. Für diese Problematik mag es verstärkende Faktoren geben. Eine französische Studie weist auf das stark gehäufte Auftreten von antibiotika-resistenteren Keimen, auf die vermehrte Nutzung von Antibiotika im Stall und damit einhergehend auch den vermehrten persönlichen Kontakt zu antibiotischen Substanzen hin. Ferner habe der Landwirt auch vermehrt Kontakt zu resistenten Keimen der Tiere selbst (Aubry-Damon et al., 2004). Auch andere Autoren sehen gerade im Kontakt zu Schweinen einen der größten Risikofaktoren für MRSA-Besiedlung (Denis et al., 2009; Kock et al., 2009; Lewis et al., 2008; Meemken et al., 2008; Smith et al., 2009). Der speziesübergreifende Transfer von MRSA ST398 kann auch in der vorliegenden Studie stark vermutet werden, da vergleichbare Antibiotikaprofile, sowie die gleichen SCCmec-Typen bei Tieren wie bei Landwirten und Veterinären gefunden werden konnten. Der Gedanke des speziesübergreifenden Transfers wurde kürzlich auch in anderen Forschungsbeiträgen festgehalten (Pletinckx et al., 2013). Die Möglichkeit des Eingangs von ST398 in das Umfeld der Krankenhäuser kann also bei der aufgezeigten Häufigkeit der MRSA-Träger innerhalb dieser Berufsgruppe nicht ausgeschlossen werden. Ein wichtiger Punkt scheint hier aber vor allem die Verbreitungsmöglichkeit der LA-MRSA ST398 zu sein. Dies wurde hier nicht untersucht, bietet aber einen wichtigen Ansatzpunkt für weitere Forschungsarbeit. Zu einer ähnlichen Fragestellung gelangte eine niederländische Forschungsgruppe. Sie stellten in Vergleichen fest, die Transmissibilität von ST398 sei fast sechsfach niedriger als bei non-ST398 (Bootsma et al., 2011).

5.5 Antibiotikaresistenzen

5.5.1 Schweine und Stallumgebung

Die bei den Schweinen und ihrer Umgebung festgestellten Antibiotikaresistenzen unterschieden sich von den bei den Krankenhauspatienten festgestellten Antibiotikaresistenzen. Auffallend war die absolute Tetrazyklinresistenz, welche auch durch das Vorhandensein der drei Tetrazyklinresistenzgene *tetK*, *tetM* und *tetEfflux* erklärt werden konnte. Sie wurden in allen (100 %) aus dem porcinen Sektor isolierten MRSA identifiziert. Ähnlich umfassende Tetrazyklinresistenzen konnten in weiteren Studien ermittelt werden (Alt et al., 2011; Battisti et al., 2010; Crombe et al., 2012; de Neeling et al., 2007; Frick, 2010;

Diskussion

Guardabassi et al., 2007; Tenhagen et al., 2009; van Duijkeren et al., 2008). Fast in allen genannten Studien wurde eine Tetrazyklinresistenz von 100 % beobachtet. Sie alle bezogen sich auf LA-MRSA ST398 und stammen aus den benachbarten Staaten, Dänemark, Italien, Belgien und den Niederlanden. Dies legt den Verdacht nahe, dass die Tetrazyklinresistenz ein festes Charakteristikum der europäischen porcinen LA-MRSA ST 398 sein könnte. Dies mag mit der breiten Nutzung von Tetrazyklin als Therapeutikum in der Schweinemedizin zusammenhängen, denn im Jahr 2011 wurden über 500 Tonnen Tetrazykline in der Tiermedizin umgesetzt (Lebensmittelsicherheit, 2013).

Neben der Tetrazyklinresistenz fiel eine deutliche Clindamycin- und Makrolidresistenz bei den porcinen Isolaten auf. Clindamycin gehört zur Gruppe der Lincosamide. Es besteht eine Kreuzresistenz zwischen der Gruppe der Makrolide und Lincosamide. Die Resistenzen werden durch *erm*-Gene vermittelt. In den hier untersuchten porcinen Isolaten konnten *erm*-Gene in bis zu 38 % der LA-MRSA nachgewiesen werden. Eine weitere deutsche Studie wies bei einem einzelnen Lincosamid/Makrolidresistenten porcinen Staphylokokkus das Gen *ermA* nach (Schwarz et al., 2008). Deutlich aussagekräftigere Daten über die Wirkstoffresistenz weisen die nachfolgenden Studien auf. Bezüglich der Makrolid- und Lincosamidresistenz sprechen belgische und italienische Studien von einer starken Ausprägung der Resistenz in über bzw. bis zu 70 % der untersuchten Isolate (Battisti et al., 2010; Crombe et al., 2012). Die Untersuchung von MRSA aus deutschen Schlachtschweinen wiesen sogar bis zu 80 % erythromycinresistente MRSA nach (Tenhagen et al., 2009). Neben der schon diskutierten Tetrazyklinresistenz muss auch die Makrolid- und Lincosamidresistenz, im Einklang mit den vorliegenden Ergebnissen, als ein maßgebliches Merkmal der LA-MRSA ST398 betrachtet werden. Ähnlich wie bei Tetrazyklin, kann auch hier ein Zusammenhang von Resistenzausbildung und Einsatz der Wirkstoffe vermutet werden.

Auch die Trimethoprimresistenz scheint charakteristisch für LA-MRSA ST398 zu sein, war sie doch in 53 % der porcinen MRSA aufgetreten. Doch konnte unter den Resistenzgenen keine Entsprechung gefunden werden. Das Trimethoprimresistenz vermittelnde Gen *dfrS1* (syn. *dfrK*) wurde in keinem porcinen Isolat nachgewiesen. An dieser Stelle sei aber darauf hingewiesen, dass auch weitere Gene für die Resistenz einzelner Wirkstoffe verantwortlich sein können und ein bisher unbekanntes Zusammenspiel verschiedener Gene denkbar ist, zumal der reine Nachweis eines Resistenzgenes nicht gleichzusetzen ist mit der wirksamen Expressierung des Gens. So lässt sich zum Beispiel erklären, warum manche Gene zwar vorkommen, aber keine Entsprechung in den Antibiotogrammen zu finden ist. Neben dem Gen *dfrK* kann auch *dfrG* Resistenz vermitteln. Das Gen *dfrG* wurde, wie auch *dfrK*, in der

Vergangenheit schon mit porcinen MRSA in direkten Zusammenhang gebracht (Kadlec et al., 2009). Neben den weiter oben im Text erwähnten Antibiotikaresistenzen findet auch die in der Hälfte der porcinen MRSA-Isolate aufgezeigte Trimethoprimresistenz eine Entsprechung in der aktuellen Literatur. Die Trimethoprimresistenz wurde auch in italienischen Schweinen bei deutlich über der Hälfte (68 %) der isolierten MRSA beobachtet (Battisti et al., 2010). In belgischen MRSA ließ sich die Trimethoprimresistenz in 97 % der isolierten MRSA nachweisen und liegt damit deutlich höher als in unseren Untersuchungen und der kurz aufgeführten Italienischen (Crombe et al., 2012). Vergleichbar mit den vorliegenden Ergebnissen ist allerdings eine aktuelle deutsche Überprüfung der porcinen MRSA. Hier wurde in 40 % der Isolate eine Resistenz beobachtet (Alt et al., 2011). Man kann vorläufig festhalten, dass in Deutschland mit gewisser Wahrscheinlichkeit die Trimethoprimresistenz bei von Schweinen und ihrer Stallumgebung isolierten MRSA weniger stark ausgeprägt ist als bei porcinen MRSA der deutschen Nachbarstaaten. Inwieweit hier länderspezifische Unterschiede in der Verschreibungs- und Nutzungsmenge von Trimethoprim als Wirkstoff im Schweinestall den Hintergrund der gemachten Feststellungen dienen, sollte Gegenstand weiterer Studien sein. Zumindest für Deutschland darf von einem Zusammenhang der Resistenzausbildung mit dem Einsatz von Wirkstoffen der Trimethoprim-Sulfonamid-Gruppe ausgegangen werden.

Gegenüber den als Reserveantibiotika eingestuften Antibiotika Teicoplanin, Vancomycin und Tigecyclin wurden keine Resistenzen beobachtet. Dies fällt mit dem geringen bzw. nicht stattfindenden Einsatz dieser Wirkstoffe zusammen.

Es scheint, dass sich bestimmte Resistenzcharakteristika spezifisch für LA-MRSA ST398 manifestieren und diese somit deutlich in ihrer Antibiotikaresistenz von HA-MRSA abweichen.

5.5.2 Krankenhauspatienten

Die aus der Heidelberger Universitätsklinik isolierten MRSA setzten sich in mehreren Punkten deutlich von den, aus den porcinen Proben isolierten, LA-MRSA ST398 ab. Besonders drastisch zeigt dies die stark unterschiedliche Tetrazyklinresistenz und das Auftreten der Tetrazyklinresistenzgene *tetK*, *tetM* und *tetEfflux*. Zwar tragen über 80 % der humanen MRSA das Gen *tetEfflux*, doch liegt in nur ca. 8 % der MRSA eine Resistenz gegenüber dem Wirkstoff Tetrazyklin vor. Eine malayische Untersuchung von humanen MRSA aus dem Krankenhausreservoir führt die dort festgestellten Tetrazyklinresistenzen auf das Vorhandensein oder die Abwesenheit von *tetM* und *tetK* zurück. Dort waren alle

Diskussion

tetrazyklinresistenten MRSA mit einem oder beiden Genen ausgestattet (Lim et al., 2012). Ebenfalls auf die Gene *tetM* und *tetK*, neben anderen, gehen weitere Studien ein. In diesen konnte ebenfalls ein direkter Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer Tetrazyklinresistenz und den beiden genannten Genen geknüpft werden (Ho et al., 2012; Kadlec et al., 2009; Trzcinski et al., 2000).

Die Kreuzresistenz zwischen Makroliden und Lincosamiden tritt mit bis zu 78 % resistenter MRSA, wie auch bei den porcinen MRSA mit bis zu 73 %, deutlich hervor. Beide Reservoirs, Krankenhaus und Schweinewirtschaft, zeichnen sich durch eine weitreichende ML-Resistenz aus. Hier ist also kein Unterschied festzustellen.

Die in den LA-MRSA aufgezeigte Trimethoprimresistenz allerdings findet in den MRSA-Isolaten aus dem Patientenaufkommen keine vergleichbare Entsprechung. Nur sieben Isolate wiesen hier eine Trimethoprimresistenz auf. Von einer deutlichen Resistenz wird allerdings aus libyschen Gesundheitseinrichtungen berichtet. Dort wurde eine Trimethoprim/Sulfmethexasolresistenz in 50 % der MRSA beobachtet (Ahmed et al., 2012). Für MRSA aus deutschen Krankenhäusern scheint eine günstige Resistenzlage für den besprochenen Wirkstoff vorzuherrschen. Neben der genannten Resistenz kann auch im Hinblick auf die unterschiedliche Fluorchinolonresistenz von einem Unterscheidungsmerkmal zwischen LA-MRSA ST398 und der Gruppe der HA-MRSA gesprochen werden. Die krankenhaus-assoziierten MRSA-Isolate wiesen in ca. 80 % der Fälle eine Fluorchinolonresistenz auf, der keine vergleichbare Resistenz im Schweinereservoir gegenüberstand. Besagte libysche Studie deckt mit 77 % Fluorchinolonresistenz im Krankenhausreservoir die von uns gemachten Beobachtungen. Dies könnte mit einem höheren Verbrauch von Fluorchinolonen in der Humanmedizin im Vergleich zur Tiermedizin erklärt werden. In der Tiermedizin werden Fluorchinolone nur sehr zurückhaltend eingesetzt. So lag der Verbrauch 2011 bei nur 8 Tonnen (Lebensmittelsicherheit, 2013).

Analog zu den im Schweinereservoir festgestellten Ergebnissen liegt auch hier keine Resistenz gegenüber den als Reserveantibiotika eingestuften Wirkstoffen vor. In einer Übersichtsstudie wird aber auf die Verbreitung einer Resistenz von MRSA im humanen Sektor gegenüber Vancomycin und Teicoplanin eingegangen und von auftretenden Resistenzen in Europa und den USA berichtet (Haddadin et al., 2002).

Einzig gegen den Wirkstoff Mupirocin konnte ein einzelnes Isolat als resistent betrachtet werden. Jener MRSA war Träger des Gens *mupA*, welches Mupirocinresistenz vermittelt. Hierbei handelte es sich nicht um einen LA-MRSA ST398, sondern um einen HA-MRSA ST5/ST225. Auch bei CA-MRSA wird die Mupirocinresistenz gesehen und in direkten

Zusammenhang mit dem Gen *mupA* gebracht (Udo and Sarkhoo, 2010). Die Resistenz gegenüber dem wichtigen zur nasalen MRSA-Sanierung eingesetzten Wirkstoff wird sehr selten in Deutschland beobachtet. Die Entwicklung einer Mupirocinresistenz wird in den Niederlanden in Zusammenhang mit der Behandlung in bis zu 9 % der MRSA-positiven Patienten gesehen (Ammerlaan et al., 2009). Insgesamt stellt sich die Resistenz der im Krankenhaus auftretenden MRSA (HA- und CA-MRSA) als breitgefächter gegenüber den veterinärmedizinischen Isolaten dar. Dies mag mit dem Gebrauch einer höheren Bandbreite an unterschiedlichen antibiotischen Präparaten im humanmedizinischen Reservoir liegen. Die Veterinärmedizin bedient sich im Vergleich eines geringeren Spektrums an Wirkstoffen.

5.6 Reinigungsmittelresistenzen

Bei der Untersuchung der Reinigungs- und Desinfektionsmittelresistenzen wurde das Vorhandensein der Gene *QuacA* und *QuacC* überprüft. Besagte Gene konnten in keinem MRSA-Isolat mit veterinärmedizinischem Bezug beobachtet werden. Der Nachweis gelang nur innerhalb der MRSA-Isolate mit direktem Krankenhausbezug und hier mit deutlicher Ausprägung beim MRSA ST5/ST225 „Rhine-Hesse“. In der Literatur finden sich Berichte über das mögliche Auftreten von *Quac*-Genen auch innerhalb des veterinärmedizinischen Sektors (Bjorland et al., 2005; Bjorland et al., 2003). Allerdings handelt es sich hierbei um andere *Quac*-Gene als die, welche hier für die Krankenhauspatienten identifiziert wurden. Es kann also, zumindest auf der Grundlage der vorliegenden Untersuchungen, davon ausgegangen werden, dass bisher keine Übertragung bzw. ein Austausch von *Quac*-Genen zwischen den LA-MRSA und den HA-MRSA/CA-MRSA stattgefunden hat und sich das Auftreten der *Quac*-Gene auf das Krankenhaus beschränkt.

5.7 MLST-Typen

5.7.1 Veterinärmedizinische MRSA

Die dem Schweinereservoir entstammenden und genotypisierten MRSA-Isolate konnten ausnahmslos dem MRSA ST398 zugewiesen werden. Das Auftreten von ST398 im Zusammenhang mit Schweinen wird in der Literatur vielfach diskutiert (Alt et al., 2011; Battisti et al., 2010; Crombe et al., 2012; Kock et al., 2013). Im Einklang mit den bisherigen Forschungsergebnissen zeigt auch die vorliegende Studie die Dominanz von ST398 im Schweinereservoir. In allen vier Bundesländern wurde einheitlich ST398 nachgewiesen. Dies deckt sich mit den Berichten über die deutschlandweite Verbreitung von ST398 in der Schweinehaltung. Die in Asien beobachtete Ausbreitung von anderen Typen im

Diskussion

Schweinereservoir, wie zum Beispiel ST9, oder auch das Auftreten von MRSA-Typen, die zur Gruppierung der CA-MRSA zählen, konnte hier nicht gezeigt werden (Asai et al., 2012). Die untersuchten Isolate dieser Studie zeigten dominant den SCCmec-Typ V, gefolgt von Typ IV. Auch diese Ergebnisse stehen in Einklang mit den LA-MRSA Untersuchungen der vorausgegangenen Forschungsprojekte (Alt et al., 2011; Morcillo et al., 2012; van Duijkeren et al., 2008).

Die Tatsache, dass sowohl bei den Umgebungsproben, den Tieren als auch den Landwirten ST398 aufgefunden wurde, lässt die Möglichkeit einer wechselseitigen Übertragung stark vermuten. Dieser Gedanke findet sich schon bei anderen Studien (Khanna et al., 2008; Kock et al., 2009; Kock et al., 2013; Pletinckx et al., 2013). Inwieweit der MRSA-belastete Umgebungsstaub hier als Verursacher einer aerogenen Transmission von MRSA für Mensch und Tier fungiert, konnte nicht eruiert werden. Allerdings kann nicht ausgeschlossen werden, dass Veterinärmedizinstudenten durch den Besuch eines MRSA-positiven Bestandes kolonisiert werden. Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Studenten wiesen sehr häufig eine nasale Besiedlung mit MRSA ST398 auf und waren bei dem Besuch von MRSA ST398 positiven Beständen anwesend. Der Nachweis des gleichen MRSA-Typs im Umgebungsstaub und Studenten lässt auf eine Übertragung während des Stallbesuchs schließen. Diese Überlegung wird durch weitere Studien aus den Nachbarländern gestützt, die zu analogen Ergebnissen kamen und diese genauer untersuchten, als in der hier durchgeführten Studie möglich war (Frana et al., 2013).

5.7.2 MLST-Typen bei Krankenhauspatienten

Der bei der Gruppe der Krankenhauspatienten vorherrschende MLST-Typ war ST5/ST225-MRSA II, gefolgt von CC22-MRSA IV. Beide MRSA-Klone gehören zu der Gruppe der HA-MRSA. Auch CA-MRSA konnten nachgewiesen werden. Sie gehörten zum Beispiel dem ST8-MRSA IV (USA 300) an. Weitere MLST/CC Typen konnten beobachtet werden, allerdings nur in sehr geringen Zahlen bzw. vereinzelt.

Das gehäufte Auftreten von ST5/ST225-MRSA II und CC22-MRSA IV im Krankenhausreservoir in Deutschland wird durch weitere Beobachtungen Anderer gestützt. In einer retrospektiven Studie zur Ausbreitung von MRSA in einem deutschen Krankenhaus konnte eine starke Prävalenz von CC22-IV mit 34,7 % aller insgesamt untersuchten Isolate aufgezeigt werden. MRSA ST5/ST225-II folgte in dieser Studie mit einem Anstieg über die letzte Dekade von 2 % bis 30 % aller jährlichen Isolate und 26 % aller getesteten Isolate insgesamt (Albrecht et al., 2011). Die MRSA ST5-MRSA II sowie ST22-MRSA IV und auch

der HA-MRSA ST45-MRSA IV traten in sächsischen Krankenhäusern ebenfalls dominant auf, wobei weitere Stämme sporadisch festgestellt werden konnten (Monecke et al., 2008).

Die Mehrzahl der in dieser Studie genotypisierten MRSA-Isolate aus der Gruppe der Krankenhauspatienten gehörte den HA-MRSA an. Doch neben HA-MRSA wurden auch vereinzelt CA-MRSA nachgewiesen. Hierbei konnten ST8-MRSA IV und ST80-MRSA IV beobachtet werden. ST8-MRSA IV wird auch als „USA300“ bezeichnet und ist der in den USA vorherrschende CA-MRSA (Otter and French, 2010; Witte et al., 2007a). ST80-MRSA IV wird als der in der EU dominierende Typ angesehen (Otter and French, 2010). Es konnte in dieser Studie allerdings keine Dominanz von ST80-MRSA IV über ST8-MRSA IV festgestellt werden. Inwiefern durch die relativ starke Präsenz der US-Armee in Heidelberg lokal ein höherer Anteil von USA300 im Patientenaufkommen zu erklären ist, konnte nicht herausgearbeitet werden. US-Bürger und US-Soldaten suchen aber, neben militärischen Sanitätseinrichtungen, die Heidelberger Universitätsklinik auf. Der Gedanke hierin den möglichen Ursprung von MRSA USA300 zu vermuten, drängt sich auf. Das Auftreten und der Eintrag von CA-MRSA in das Krankenhausreservoir hinein verdeutlichen die Gefahr der Durchmischung der humanen Reservoirs untereinander. In Nordamerika hingegen wurde eine Zunahme der MRSA-USA300 in Krankenhäusern aufgedeckt, verbunden mit der These, CA-MRSA könnten HA-MRSA im Krankenhaus ersetzen (Kouyos et al., 2013). Die Problematik eines zunehmenden und verstärkten Aufkommens von CA-MRSA im eigentlichen HA-MRSA Reservoir inklusive Verschiebung der im Krankenhaus dominierenden MRSA-Typen konnte hier nicht gesehen werden. Die Berichte über auffallend hohe Prävalenzen von CA-MRSA im Bereich der Krankenhäuser findet in dieser aktuellen Studie keine Entsprechung (Huang et al., 2006; Salgado et al., 2003). Es scheint vielmehr, dass die vorliegenden CA-MRSA in das breitere MRSA-Spektrum des Krankenhauses integriert wurden. Zu ähnlichen Schluss kam auch eine amerikanische Studie, welche zwar auf die Problematik der zusätzlichen CA-MRSA Belastung hinwies, aber keinen massiven Eingang in das eigentliche HA-MRSA Reservoir sah (Klein et al., 2009).

Der als LA-MRSA klassifizierte CC398 wurde bei den Krankenhauspatienten in vier Patienten-Isolaten nachgewiesen. Dies belegt die Möglichkeit der Einschleppung von LA-MRSA in das Krankenhaus hinein. Nicht nur in der vorliegenden Studie konnte der Eintrag von LA-MRSA ST398 in das Krankenhaus hinein aufgezeigt werden. Es wurde auch z.B. in Italien das Auftreten von ST398 in Krankenhauspatienten nachgewiesen (Mammina et al., 2012). Inwieweit die betroffenen Patienten mit Schweinen in Kontakt standen, konnte in unserer Studie eruiert werden. Von den vier Patienten war eine Person direkt in der

Diskussion

Schweinewirtschaft tätig. Bei den anderen Personen handelte es sich um Berufsbilder ohne Bezug zur Schweinezucht (Architektur und Bäckereigewerbe). Aufgrund der sehr geringen Anzahl von lediglich vier LA-MRSA lässt sich keine Verdrängung durch oder Ausbreitung von LA-MRSA CC398 im Krankenhausreservoir befürchten. Es kann von Einzelfällen ausgegangen werden. Inwiefern diese einen Effekt bzgl. des Eintrags von neuartigen Resistenzen in das Krankenhaus haben, darf angezweifelt werden, zumal die für LA-MRSA charakteristischen Resistenzen schon bei den humanen Isolaten vorhanden waren. Allerdings wird hier aufgezeigt, dass über den Kontakt mit dem Tier Schwein sehr wohl das Potential der Einschleppung in ein Krankenhaus gegeben ist.

5.8 Panton-Valentine-Leukozidin

Die im Rahmen dieser Studie isolierten MRSA von Schweinen, Landwirten, Tierärzten, Veterinärmedizinstudenten und Stallumgebungsproben stellten sich alle als PVL-negativ dar. Alle Isolate waren dem MRSA ST398 zuzuweisen, was bedeutet, dass bei diesem MRSA-Typ kein PVL nachgewiesen werden konnte. Das Nichtvorkommen von PVL im Schweinereservoir deckt sich mit den Beobachtungen zahlreicher weiterer Autoren (de Neeling et al., 2007; Frick, 2010; Lewis et al., 2008; van Duijkeren et al., 2008; van Duijkeren et al., 2007; Witte et al., 2007a).

Im Gegensatz hierzu konnte das Auftreten von PVL in sieben Fällen in den Proben der Krankenhauspatienten beobachtet werden. Die Mehrzahl der PVL-positiven Krankenhauspatienten waren Träger von MRSA „USA300“. Der CA-MRSA „USA300“ wird regelmäßig mit dem Auftreten von PVL assoziiert (Tsuji et al., 2007; Witte et al., 2007a). Im Unterschied zu den CA-MRSA sind HA-MRSA seltener Träger von PVL (Tsuji et al., 2007). Da PVL nicht im Veterinärreservoir aufzutreten scheint, kann, im Vergleich zu den MRSA aus dem Krankenhaus, von einer geringeren humanen Virulenz der LA-MRSA ST398 ausgegangen werden.

6 Schlussfolgerungen

Das Auftreten von MRSA im Schweinebestand, bei den Schweinen selbst sowie in deren Stallumgebung und den mit den Tieren arbeitenden Personen konnte in der vorliegenden Arbeit näher untersucht werden.

Hierbei fiel eine weite Verbreitung von LA-MRSA ST398 innerhalb der beprobten Betriebe in vier unterschiedlichen Bundesländern auf. Die Tiergruppe, welche am stärksten von MRSA besiedelt waren, war die Gruppe der Mastschweine. Die Gruppe mit der niedrigsten MRSA-Prävalenz war die Altersgruppe der Sauen. Ferner war deutlich über die Hälfte der Umgebungsproben positiv. Es konnte ein Zusammenhang zwischen den MRSA der Schweine und der Landwirte sowie den Umgebungsproben und den Landwirten vermutet werden. Dies unterstreicht die wahrscheinlich hohe Übertragbarkeit von LA-MRSA auf die im Stall und mit den Tieren arbeitenden Personen. Im Rahmen dieser Ergebnisse wurde stets bei allen schweineassoziierten MRSA der LA-MRSA ST398 identifiziert. Dieser zeichnete sich durch dominante Tetrazyklinresistenz und weit verbreitete Makrolid/Lincosamid- und Trimethoprimresistenz aus. Die Tetrazyklinresistenz scheint dabei in hohem Maße von den Genen *tetK* und *tetM* abhängig zu sein, weniger von *tetEfflux*. Aufgrund dieser Ergebnisse kann man im Einklang mit der Literatur von Charakteristika für porcine LA-MRSA ST398 sprechen. Der fehlende Nachweis von CA-MRSA oder auch HA-MRSA im Schweinebestand spricht hier gegen eine Durchmischung der humanen und porcinen MRSA-Reservoirs.

Die MRSA-Isolate, welche aus der Gruppe der Krankenhauspatienten gewonnen werden konnten, wiesen von den LA-MRSA ST398 abweichende Antibiotogramme und Resistenzgenausstattungen auf. Auch dies spricht gegen einen breiten Austausch von Resistenzen zwischen LA-MRSA und z.B. HA-MRSA über die eigentlichen Reservoirgrenzen hinweg. So liessen sich z.B. in den HA-MRSA nur in sehr seltenen Fällen *tetK* und *tetM* aufzeigen. Der Eingang von LA-MRSA ST398 in das Krankenhaus hinein ist allerdings möglich und findet vereinzelt auch statt. Es konnte in der vorliegenden Untersuchung gezeigt werden, dass LA-MRSA ST398 positive Patienten im Krankenhaus aufgetreten sind und in einem Fall auch direkt mit der Schweinezucht in Verbindung gebracht werden konnten. Dies belegt zwar das Risiko der Einschleppung von reservoirstrengen LA-MRSA mit unterschiedlicher Resistenzgenausstattung in das Verbreitungsgebiet der HA-MRSA hinein, man darf aber von Einzelfällen ausgehen. Es betont aber die Überlegung, spezielle Berufsgruppen vor Krankenhausaufenthalt auf LA-MRSA zu screenen und solche Kontrollmaßnahmen flächendeckend in Krankenhäusern einzuführen.

Schlussfolgerungen

Die bei den Krankenhauspatienten beobachteten MRSA wiesen neben zwei Hauptgruppierungen ein relativ breit gefasstes Spektrum verschiedener MRSA-Stämme auf. Dies setzt sie sehr deutlich von dem homogenen porcinen Reservoir ab. Innerhalb des MRSA-Spektrums der Patienten dominierten die HA-MRSA gegenüber den CA-MRSA. Die These der Ablösung bis gleichberechtigten Existenz von CA- und HA-MRSA im Krankenhaus kann also in diesem Fall abgelehnt werden. Es zeigt aber, dass eine Durchmischung der humanen Reservoirs untereinander sehr wohl stattfindet. Im Gegensatz hierzu muss aufgrund der vorliegenden Ergebnisse die Befürchtung der Verdrängung von HA-MRSA im Krankenhaus durch LA-MRSA abgewiesen werden.

Die Frage ob und wie stark eine unmittelbare Gefährdung der in der Humanmedizin als Reserveantibiotika eingesetzten Wirkstoffe durch porcine LA-MRSA ST398 besteht, kann beantwortet werden. Es ließen sich keine messbaren Resistenzen in porcinen MRSA-Proben hinsichtlich der Wirkstoffe Mupirocin, Tigecyclin, Rifampicin, Teicoplanin und Vancomycin nachweisen. Doch auch für die HA-MRSA ist die Resistenzlage gemessen an den hier untersuchten MRSA-Isolaten als günstig einzustufen, obwohl die Wirkstoffresistenzen relativ breit verteilt sind und ein Mupirocin-resistenter MRSA-Stamm isoliert werden konnte.

7 Zusammenfassung

Christian Paul Bieber

„Vergleichende molekularepidemiologische Studie porciner und humaner MRSA in Deutschland unter besonderer Berücksichtigung der Antibiotikaresistenzen“

Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA) ist als ein wichtiges Pathogen in der Humanmedizin und als Erreger nosokomialer Infektionen bekannt. Seit wenigen Jahren liegt auch in der Veterinärmedizin der Fokus auf der Untersuchung und Verbreitung von MRSA in der Tierhaltung. So tritt MRSA der klonalen Linie ST398 dominant bei Schweinen auf.

Das Ziel der vorliegenden Studie bestand darin, die Antibiotikaresistenzen von primär HA-MRSA und LA-MRSA miteinander zu vergleichen. Es galt zu eruieren, inwiefern sich die beiden Gruppen in ihrer Antibiotikaresistenz unterscheiden und eine Gefährdung der Wirksamkeit der in der Humanmedizin genutzten Reserveantibiotika angenommen werden muss. Auf Basis der Genotypisierung sollte ferner aufgezeigt werden, ob eine Ausbreitung von LA-MRSA ausgehend vom Schwein und den mit diesen arbeitenden Personen in das Krankenhaus hinein stattgefunden hat und wenn ja, in welchem Umfang.

Es wurden Nasentupferproben von Schweinen, beruflich exponierten Personen und Umgebungsproben auf 27 landwirtschaftlichen Betrieben in vier Bundesländern gesammelt. Um einen Vergleich der unterschiedlichen Reservoirs zu ermöglichen, wurden MRSA-Isolate von Krankenhauspatienten des Heidelberger Universitätsklinikums mit in die Studie einbezogen. Die Tupfer- und Staubproben wurden auf Columbia 5 % Schafblutagar und auf Chromoagar II (Fa. BD) ausgebracht. Sie wurden für 24 h bei 36 ° C inkubiert. Das Wachstum von *S. aureus* wurde mit Staph.Plus-Test (Fa. BIO-RAD) und MALDI-TOF MS (Fa. Bruker Daltonik) bestätigt. Die Resistenzuntersuchung wurde mit VITEK 2 (Fa. bioMérieux) und Agardiffusionstest durchgeführt. Die anschließende Genotypisierung ausgewählter Isolate erfolgte mit dem MicroArray-System (Fa. Alere Germany).

Die wesentlichen Ergebnisse der Studie stellen sich wie folgt dar:

Es konnte in 85 % der untersuchten Betriebe das Auftreten von MRSA nachgewiesen werden. Insgesamt waren 50 % der Tierproben, 57 % der Umgebungsproben und 60 % der beprobten

Zusammenfassung

Personen mit Schweinekontakt MRSA-positiv. Die Genotypisierung der ausgewählten Isolate aus dem Schweinesektor ergab stets den LA-MRSA CC 398. Es fand somit kein Eintrag von CA-MRSA oder HA-MRSA in die Stallungen statt. Dem entgegengesetzt wurde in vier Fällen LA-MRSA CC 398 aus Proben von Krankenhauspatienten isoliert. In der Gruppe der Krankenhauspatienten dominierte die MRSA-Subgruppe der HA-MRSA. Im Hinblick auf die Antibiotikaresistenzen und auch die für diese codierenden Resistenzgene wurden z.T. sehr deutliche Unterschiede in den porcinen und humanen MRSA-Isolaten festgestellt. Die porcinen Isolate waren durch 100 % Tetrazyklinresistenz, 50 % Trimethoprimresistenz und 20 % Aminoglycosidresistenz gekennzeichnet. Die humanen Patienten-Isolate hingegen wiesen mit 81 % eine stark ausgeprägte Fluorchinolonresistenz auf. Beide Gruppierungen zeigten mit über 70 % Verbreitung deutliche Makrolid/Lincosamidresistenzen. Allerdings wiesen die humanen Isolate eine insgesamt breitere Wirkstoffresistenz auf. In beiden MRSA-Reservoirs konnten bis auf eine einzelne Mupirocinresistenz bei einem Krankenhauspatienten keine Resistenzen hinsichtlich der als Reserveantibiotika klassifizierten Wirkstoffe nachgewiesen werden.

Das humane und das porcine MRSA-Reservoir unterscheiden sich somit deutlich voneinander. Dies trifft sowohl auf die vorliegenden Antibiotikaresistenzen und den mit diesen in Verbindung stehenden Resistenzgenausstattung zu, als auch auf die jeweils nachgewiesenen stark unterschiedlichen klonalen Linien. Obwohl auch ein Eintrag von LA-MRSA aus dem Schweinereservoir in das Krankenhaus nachgewiesen werden konnte, zeigt die Resistenzlage der HA-MRSA keine Einflussnahme durch die LA-MRSA.

8 Summary

Christian Paul Bieber

„Comparative molecular epidemiological study of porcine and human MRSA in GermAny regarding resistances against antibiotics“

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is known as a cause of nosocomial infections and as an important pathogen in human medicine. The focus in veterinary medicine has been on the investigation and dissemination of MRSA in livestock breeding for a few years. MRSA of the clonal lineage ST398 dominantly occurs in pigs.

The aim of this study was to compare the antibiotic resistance of HA-MRSA and LA-MRSA with each other. It was investigated to what extent the two groups differ in their antibiotic resistance and whether a threat to the effectiveness of the antibiotics of last resort must be assumed. Furthermore, on the basis of genotyping, it was to be pointed out if a spread of LA-MRSA from pigs and persons working with these took place towards the hospital and if so to what extent.

Nasal swabs from pigs, occupationally exposed persons and from the environment of 27 farms in four federal states of Germany were collected. MRSA-isolates from hospitalised patients at the Heidelberg University Hospital were included in the study in order to enable a comparison of the different reservoirs. The swab and dust samples were inoculated on Columbia 5 % sheep blood agar plate (BD) and on Chromoagar II (BD). They were incubated for 24 h at 35 °C. The growth of MRSA was confirmed by Staph.Plus test (BIO-RAD) and MALDI-TOF MS (Bruker Daltonik). The susceptibility-testing was performed by VITEK 2 (bioMérieux) and agar diffusion test. The genotyping of selected isolates was performed using the MicroArray system (Alere Germany).

The main results are as follows:

In 85 % of the tested farms the appearance of MRSA was detected. Overall, 50 % of the animal samples, 57 % of the environmental samples and 60 % of the sampled individuals with pig contact were positive for MRSA. Genotyping of selected isolates from the pig sector showed the LA-MRSA ST398 in all cases. Thus, there was no record of CA-MRSA or HA-

Summary

MRSA in the samples. Contrarily to this, LA-MRSA ST398 from samples of hospitalised patients was isolated in four cases. In the group of the hospitalised patients the MRSA subgroup of the HA-MRSA dominated. In view of the antibiotic resistance and the genes coding resistance partially very significant differences in the porcine and human MRSA isolates have been found. The porcine isolates were characterised by 100 % tetracycline resistance, 50 % trimethoprim resistance and 20 % aminoglycoside resistance. The human patient isolates, however, exhibited 81 % fluoroquinolone resistance. Both groups showed significant macrolide/lincosamide resistances with over 70 % distribution. Nevertheless, the human isolates possessed a wider overall drug resistance. In both MRSA reservoirs, except for a single mupirocin resistance of a hospitalised patient, no resistance with regard to the antibiotics of last resort were detected.

The human and porcine MRSA reservoir differ significantly from each other. This applies to both, the antibiotic resistances and the related resistance genes as well as to the detected clonal lines. Even though LA-MRSA from the porcine reservoir was detected in the hospital, the resistance status of HA-MRSA appears not to be influenced by LA-MRSA.

Literaturverzeichnis

- Ahmed, M.O., Elramalli, A.K., Amri, S.G., Abuzweda, A.R., Abouzeed, Y.M., 2012. Isolation and screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from health care workers in Libyan hospitals. *Eastern Mediterranean health journal = La revue de sante de la Mediterranee orientale = al-Majallah al-sihhiyah li-sharq al-mutawassit* 18, 37-42.
- Akhtar, N., 2010. Staphylococcal nasal carriage of health care workers. *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan : JCPSP* 20, 439-443.
- Albrecht, N., Jatzwauk, L., Slickers, P., Ehrlich, R., Monecke, S., 2011. Clonal replacement of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in a German university hospital over a period of eleven years. *PloS one* 6, e28189.
- Allignet, J., El Solh, N., 1997. Characterization of a new staphylococcal gene, *vgaB*, encoding a putative ABC transporter conferring resistance to streptogramin A and related compounds. *Gene* 202, 133-138.
- Allignet, J., Liassine, N., el Solh, N., 1998. Characterization of a staphylococcal plasmid related to pUB110 and carrying two novel genes, *vatC* and *vgbB*, encoding resistance to streptogramins A and B and similar antibiotics. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 42, 1794-1798.
- Allignet, J., Loncle, V., el Solh, N., 1992. Sequence of a staphylococcal plasmid gene, *vga*, encoding a putative ATP-binding protein involved in resistance to virginiamycin A-like antibiotics. *Gene* 117, 45-51.
- Allignet, J., Loncle, V., Mazodier, P., el Solh, N., 1988. Nucleotide sequence of a staphylococcal plasmid gene, *vgb*, encoding a hydrolase inactivating the B components of virginiamycin-like antibiotics. *Plasmid* 20, 271-275.
- Allignet, J., Loncle, V., Simenel, C., Delepierre, M., el Solh, N., 1993. Sequence of a staphylococcal gene, *vat*, encoding an acetyltransferase inactivating the A-type compounds of virginiamycin-like antibiotics. *Gene* 130, 91-98.
- Alt, K., Fetsch, A., Schroeter, A., Guerra, B., Hammerl, J.A., Hertwig, S., Senkov, N., Geinets, A., Mueller-Graf, C., Braeunig, J., Kaesbohrer, A., Appel, B., Hensel, A., Tenhagen, B.A., 2011. Factors associated with the occurrence of MRSA CC398 in herds of fattening pigs in Germany. *BMC veterinary research* 7, 69.
- Ammerlaan, H.S., Kluytmans, J.A., Wertheim, H.F., Nouwen, J.L., Bonten, M.J., 2009. Eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage: a systematic review. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 48, 922-930.
- Anderson, M.E., Lefebvre, S.L., Rankin, S.C., Aceto, H., Morley, P.S., Caron, J.P., Welsh, R.D., Holbrook, T.C., Moore, B., Taylor, D.R., Weese, J.S., 2009. Retrospective multicentre study of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in 115 horses. *Equine veterinary journal* 41, 401-405.
- Anderson, M.E., Lefebvre, S.L., Weese, J.S., 2008. Evaluation of prevalence and risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in veterinary personnel attending an international equine veterinary conference. *Veterinary microbiology* 129, 410-417.
- Argudin, M.A., Fetsch, A., Tenhagen, B.A., Hammerl, J.A., Hertwig, S., Kowall, J., Rodicio, M.R., Kasbohrer, A., Helmuth, R., Schroeter, A., Mendoza, M.C., Braunig, J., Appel, B., Guerra, B., 2010a. High heterogeneity within methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 isolates, defined by *Cfr9I* macrorestriction-pulsed-field gel electrophoresis profiles and *spa* and *SCCmec* types. *Applied and environmental microbiology* 76, 652-658.
- Argudin, M.A., Mendoza, M.C., Gonzalez-Hevia, M.A., Bances, M., Guerra, B., Rodicio, M.R., 2012. Genotypes, exotoxin gene content, and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* strains recovered from foods and food handlers. *Applied and environmental microbiology* 78, 2930-2935.
- Argudin, M.A., Rodicio, M.R., Guerra, B., 2010b. The emerging methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 clone can easily be typed using the *Cfr9I* *SmaI*-neoschizomer. *Letters in applied microbiology* 50, 127-130.

Literaturverzeichnis

- Arias, C.A., Vallejo, M., Reyes, J., Panesso, D., Moreno, J., Castaneda, E., Villegas, M.V., Murray, B.E., Quinn, J.P., 2008. Clinical and microbiological aspects of linezolid resistance mediated by the *cfr* gene encoding a 23S rRNA methyltransferase. *Journal of clinical microbiology* 46, 892-896.
- Asai, T., Hiki, M., Baba, K., Usui, M., Ishihara, K., Tamura, Y., 2012. Presence of *Staphylococcus aureus* ST398 and ST9 in Swine in Japan. *Japanese journal of infectious diseases* 65, 551-552.
- Aubry-Damon, H., Grenet, K., Sall-Ndiaye, P., Che, D., Cordeiro, E., Bougnoux, M.E., Rigaud, E., Le Strat, Y., Lemanissier, V., Armand-Lefevre, L., Delzescaux, D., Desenclos, J.C., Lienard, M., Andremont, A., 2004. Antimicrobial resistance in commensal flora of pig farmers. *Emerging infectious diseases* 10, 873-879.
- Aubry-Damon, H., Soussy, C.J., Courvalin, P., 1998. Characterization of Mutations in the *rpoB* Gene That Confer Rifampin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 42, 2590-2594.
- Bagcigil, A.F., Taponen, S., Koort, J., Bengtsson, B., Myllyniemi, A.L., Pyorala, S., 2012. Genetic basis of penicillin resistance of *S. aureus* isolated in bovine mastitis. *Acta veterinaria Scandinavica* 54, 69.
- Batra, R., Cooper, B.S., Whiteley, C., Patel, A.K., Wyncoll, D., Edgeworth, J.D., 2010. Efficacy and limitation of a chlorhexidine-based decolonization strategy in preventing transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an intensive care unit. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 50, 210-217.
- Battisti, A., Franco, A., Merialdi, G., Hasman, H., Iurescia, M., Lorenzetti, R., Feltrin, F., Zini, M., Aarestrup, F.M., 2010. Heterogeneity among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from Italian pig finishing holdings. *Veterinary microbiology* 142, 361-366.
- Bens, C.C., Voss, A., Klaassen, C.H., 2006. Presence of a novel DNA methylation enzyme in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates associated with pig farming leads to uninterpretable results in standard pulsed-field gel electrophoresis analysis. *Journal of clinical microbiology* 44, 1875-1876.
- Berger-Bachi, B., 1999. Genetic basis of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Cellular and molecular life sciences : CMLS* 56, 764-770.
- Bergstrom, K., Aspan, A., Landen, A., Johnston, C., Gronlund-Andersson, U., 2012. The first nosocomial outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses in Sweden. *Acta veterinaria Scandinavica* 54, 11.
- Bjorland, J., Steinum, T., Kvitle, B., Waage, S., Sunde, M., Heir, E., 2005. Widespread distribution of disinfectant resistance genes among staphylococci of bovine and caprine origin in Norway. *Journal of clinical microbiology* 43, 4363-4368.
- Bjorland, J., Steinum, T., Sunde, M., Waage, S., Heir, E., 2003. Novel plasmid-borne gene *qacI* mediates resistance to quaternary ammonium compounds in equine *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus simulans*, and *Staphylococcus intermedius*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 47, 3046-3052.
- Bodley, J.W., Zieve, F.J., Lin, L., Zieve, S.T., 1969. Formation of the ribosome-G factor-GDP complex in the presence of fusidic acid. *Biochemical and biophysical research communications* 37, 437-443.
- Bootsma, M.C., Wassenberg, M.W., Trapman, P., Bonten, M.J., 2011. The nosocomial transmission rate of animal-associated ST398 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of the Royal Society, Interface / the Royal Society* 8, 578-584.
- Bos, M.E., Graveland, H., Portengen, L., Wagenaar, J.A., Heederik, D.J., 2012. Livestock-associated MRSA prevalence in veal calf production is associated with farm hygiene, use of antimicrobials, and age of the calves. *Preventive veterinary medicine* 105, 155-159.
- Bosch, T., de Neeling, A.J., Schouls, L.M., van der Zwaluw, K.W., Kluytmans, J.A., Grundmann, H., Huijsdens, X.W., 2010. PFGE diversity within the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clonal lineage ST398. *BMC microbiology* 10, 40.
- Bouanchaud, D.H., 1996. Antimicrobial activity of quinupristin-dalfopristin. *Drugs* 52, 795.

- Bouanchaud, D.H., 1997. In-vitro and in-vivo antibacterial activity of quinupristin/dalfopristin. The Journal of antimicrobial chemotherapy 39 Suppl A, 15-21.
- Brockers, B. 2011. Untersuchung zum Vorkommen und zur Kolonisationsdynamik von Methicillinresistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) bei Schweinen in Mastbeständen in Nordwestdeutschland und Ostdeutschland (Tierärztliche Hochschule Hannover; Hannover).
- Broens, E.M., Graat, E.A., Van der Wolf, P.J., Van de Giessen, A.W., De Jong, M.C., 2011. Prevalence and risk factor analysis of livestock associated MRSA-positive pig herds in The Netherlands. Preventive veterinary medicine 102, 41-49.
- Brooks, S.E., Walczak, M.A., Hameed, R., Coonan, P., 2002. Chlorhexidine resistance in antibiotic-resistant bacteria isolated from the surfaces of dispensers of soap containing chlorhexidine. Infection control and hospital epidemiology : the official journal of the Society of Hospital Epidemiologists of America 23, 692-695.
- Bugg, T.D., Wright, G.D., Dutka-Malen, S., Arthur, M., Courvalin, P., Walsh, C.T., 1991. Molecular basis for vancomycin resistance in *Enterococcus faecium* BM4147: biosynthesis of a depsipeptide peptidoglycan precursor by vancomycin resistance proteins VanH and VanA. Biochemistry 30, 10408-10415.
- Burstiner, L.C., Faires, M., Weese, J.S., 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in personnel attending a veterinary surgery conference. Veterinary surgery : VS 39, 150-157.
- Cain, C.L., 2013. Antimicrobial resistance in staphylococci in small animals. The Veterinary clinics of North America. Small animal practice 43, 19-40.
- Campbell, E.A., Korzheva, N., Mustaev, A., Murakami, K., Nair, S., Goldfarb, A., Darst, S.A., 2001. Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial rna polymerase. Cell 104, 901-912.
- Chambers, H.F., Deleo, F.R., 2009. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. Nature reviews. Microbiology 7, 629-641.
- Chen, Y.H., Ko, W.C., Hsueh, P.R., 2013. Emerging resistance problems and future perspectives in pharmacotherapy for complicated urinary tract infections. Expert opinion on pharmacotherapy 14, 587-596.
- Cohen, P.R., 2005. Cutaneous community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in participants of athletic activities. Southern medical journal 98, 596-602.
- Cohn, L.A., Middleton, J.R., 2010. A veterinary perspective on methicillin-resistant staphylococci. Journal of veterinary emergency and critical care (San Antonio, Tex. : 2001) 20, 31-45.
- Crombe, F., Willems, G., Dispas, M., Hallin, M., Denis, O., Suetens, C., Gordts, B., Struelens, M., Butaye, P., 2012. Prevalence and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among pigs in Belgium. Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.) 18, 125-131.
- Crum, N.F., 2005. The emergence of severe, community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. Scandinavian journal of infectious diseases 37, 651-656.
- Cui, L., Ma, X., Sato, K., Okuma, K., Tenover, F.C., Mamizuka, E.M., Gemmell, C.G., Kim, M.N., Ploy, M.C., El-Solh, N., Ferraz, V., Hiramatsu, K., 2003. Cell wall thickening is a common feature of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. Journal of clinical microbiology 41, 5-14.
- Daum, R.S., Ito, T., Hiramatsu, K., Hussain, F., Mongkolrattanothai, K., Jamklang, M., Boyle-Vavra, S., 2002. A novel methicillin-resistance cassette in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates of diverse genetic backgrounds. The Journal of infectious diseases 186, 1344-1347.
- de Boer, E., Zwartkruis-Nahuis, J.T., Wit, B., Huijsdens, X.W., de Neeling, A.J., Bosch, T., van Oosterom, R.A., Vila, A., Heuvelink, A.E., 2009. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. International journal of food microbiology 134, 52-56.
- de Neeling, A.J., van den Broek, M.J., Spalburg, E.C., van Santen-Verheul, M.G., Dam-Deisz, W.D., Boshuizen, H.C., van de Giessen, A.W., van Duijkeren, E., Huijsdens, X.W., 2007. High prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in pigs. Veterinary microbiology 122, 366-372.

Literaturverzeichnis

- Deisenhofer, J., 1981. Crystallographic refinement and atomic models of a human Fc fragment and its complex with fragment B of protein A from *Staphylococcus aureus* at 2.9- and 2.8-Å resolution. *Biochemistry* 20, 2361-2370.
- DeLeo, F.R., Otto, M., Kreiswirth, B.N., Chambers, H.F., 2010. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 375, 1557-1568.
- Denis, O., Suetens, C., Hallin, M., Catry, B., Ramboer, I., Dispas, M., Willems, G., Gordts, B., Butaye, P., Struelens, M.J., 2009. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in swine farm personnel, Belgium. *Emerging infectious diseases* 15, 1098-1101.
- Deresinski, S., 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an evolutionary, epidemiologic, and therapeutic odyssey. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 40, 562-573.
- Deshpande, L.M., Fix, A.M., Pfaller, M.A., Jones, R.N., 2002. Emerging elevated mupirocin resistance rates among staphylococcal isolates in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2000): correlations of results from disk diffusion, Etest and reference dilution methods. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 42, 283-290.
- Devriese, L.A., Van Damme, L.R., Fameree, L., 1972. Methicillin (cloxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis cases. *Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe B. Journal of veterinary medicine. Series B* 19, 598-605.
- Diaz, L., Kiratisin, P., Mendes, R.E., Panesso, D., Singh, K.V., Arias, C.A., 2012. Transferable plasmid-mediated resistance to linezolid due to cfr in a human clinical isolate of *Enterococcus faecalis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 56, 3917-3922.
- Diederer, B., van Duijn, I., van Belkum, A., Willemse, P., van Keulen, P., Kluytmans, J., 2005. Performance of CHROMagar MRSA medium for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology* 43, 1925-1927.
- Dinges, M.M., Orwin, P.M., Schlievert, P.M., 2000. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical microbiology reviews* 13, 16-34, table of contents.
- Dufour, P., Gillet, Y., Bes, M., Lina, G., Vandenesch, F., Floret, D., Etienne, J., Richet, H., 2002. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leukocidin. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 35, 819-824.
- Dullweber, A. 2010. Untersuchung zum Vorkommen von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Geflügelmastbeständen (Hannover).
- El Solh, N., Allignet, J., 1998. Staphylococcal resistance to streptogramins and related antibiotics. *Drug resistance updates : reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy* 1, 169-175.
- Elie-Turenne, M.C., Fernandes, H., Mediavilla, J.R., Rosenthal, M., Mathema, B., Singh, A., Cohen, T.R., Pawar, K.A., Shahidi, H., Kreiswirth, B.N., Deitch, E.A., 2010. Prevalence and characteristics of *Staphylococcus aureus* colonization among healthcare professionals in an urban teaching hospital. *Infection control and hospital epidemiology : the official journal of the Society of Hospital Epidemiologists of America* 31, 574-580.
- Enright, M.C., Day, N.P., Davies, C.E., Peacock, S.J., Spratt, B.G., 2000. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology* 38, 1008-1015.
- Farrell, D.J., Castanheira, M., Chopra, I., 2011. Characterization of global patterns and the genetics of fusidic acid resistance. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 52 Suppl 7, S487-492.
- Ferreira, J.P., Fowler, V.G., Jr., Correa, M.T., Lyman, R., Ruffin, F., Anderson, K.L., 2011. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between human and hamster. *Journal of clinical microbiology* 49, 1679-1680.
- Fessler, A., Scott, C., Kadlec, K., Ehricht, R., Monecke, S., Schwarz, S., 2010. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from cases of bovine mastitis. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 65, 619-625.

- Fischer, S.K. 2011. Untersuchung zur intraherdenprävalenz von methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Schweinebeständen in Süddeutschland (Hannover).
- Flanagan, S.E., Chow, J.W., Donabedian, S.M., Brown, W.J., Perri, M.B., Zervos, M.J., Ozawa, Y., Clewell, D.B., 2003. Plasmid content of a vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* isolate from a patient also colonized by *Staphylococcus aureus* with a VanA phenotype. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 47, 3954-3959.
- Floras, A., Lawn, K., Slavic, D., Golding, G.R., Mulvey, M.R., Weese, J.S., 2010. Sequence type 398 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection and colonisation in dogs. *The Veterinary record* 166, 826-827.
- Foster, J.L.S.J.W., 2012. Mikrobiologie-Eine Wissenschaft mit Zukunft, Vol 2.Auflage. Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- Foster, T.J., 2002. Molecular Medical Microbiology. Academic Press, Newcastle upon Tyne.
- Frana, T.S., Beahm, A.R., Hanson, B.M., Kinyon, J.M., Layman, L.L., Karriker, L.A., Ramirez, A., Smith, T.C., 2013. Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from pork farms and visiting veterinary students. *PloS one* 8, e53738.
- Francis, J.S., Doherty, M.C., Lopatin, U., Johnston, C.P., Sinha, G., Ross, T., Cai, M., Hansel, N.N., Perl, T., Ticehurst, J.R., Carroll, K., Thomas, D.L., Nuernberger, E., Bartlett, J.G., 2005. Severe community-onset pneumonia in healthy adults caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the Panton-Valentine leukocidin genes. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 40, 100-107.
- Frenay, H.M., Bunschoten, A.E., Schouls, L.M., van Leeuwen, W.J., Vandenbroucke-Grauls, C.M., Verhoef, J., Mooi, F.R., 1996. Molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on the basis of protein A gene polymorphism. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* 15, 60-64.
- Frick, J.E. 2010. Prävalenz Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA) in bayerischen Schweinebeständen (München, Ludwig-Maximilians Universität München).
- Friese, A., Schulz, J., Hoehle, L., Fetsch, A., Tenhagen, B.A., Hartung, J., Roesler, U., 2012. Occurrence of MRSA in air and housing environment of pig barns. *Veterinary microbiology* 158, 129-135.
- Geenen, P.L., Graat, E.A., Haenen, A., Hengeveld, P.D., AH, V.A.N.H., Huijsdens, X.W., Kappert, C.C., Lammers, G.A., E, V.A.N.D., AW, V.D.G., 2012. Prevalence of livestock-associated MRSA on Dutch broiler farms and in people living and/or working on these farms. *Epidemiology and infection*, 1-10.
- Gibbs, S.G., Green, C.F., Tarwater, P.M., Mota, L.C., Mena, K.D., Scarpino, P.V., 2006. Isolation of antibiotic-resistant bacteria from the air plume downwind of a swine confined or concentrated animal feeding operation. *Environmental health perspectives* 114, 1032-1037.
- Gilbert, M.J., Bos, M.E., Duim, B., Urlings, B.A., Heres, L., Wagenaar, J.A., Heederik, D.J., 2012. Livestock-associated MRSA ST398 carriage in pig slaughterhouse workers related to quantitative environmental exposure. *Occupational and environmental medicine* 69, 472-478.
- Gillespie, M.T., May, J.W., Skurray, R.A., 1986. Detection of an integrated tetracycline resistance plasmid in the chromosome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of general microbiology* 132, 1723-1728.
- Gillet, Y., Issartel, B., Vanhems, P., Fournet, J.C., Lina, G., Bes, M., Vandenesch, F., Piemont, Y., Brousse, N., Floret, D., Etienne, J., 2002. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet* 359, 753-759.
- Goding, J.W., 1978. Use of staphylococcal protein A as an immunological reagent. *Journal of immunological methods* 20, 241-253.
- Gopegui, E.R., Juan, C., Zamorano, L., Perez, J.L., Oliver, A., 2012. Transferable multidrug resistance plasmid carrying *cfr* associated with *tet(L)*, *ant(4')-Ia*, and *dfrK* genes from a clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST125 strain. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 56, 2139-2142.

Literaturverzeichnis

- Graveland, H., Wagenaar, J.A., Heesterbeek, H., Mevius, D., van Duijkeren, E., Heederik, D., 2010. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in veal calf farming: human MRSA carriage related with animal antimicrobial usage and farm hygiene. *PloS one* 5, e10990.
- Green, C.F., Gibbs, S.G., Tarwater, P.M., Mota, L.C., Scarpino, P.V., 2006. Bacterial plume emanating from the air surrounding swine confinement operations. *Journal of occupational and environmental hygiene* 3, 9-15.
- Grkovic, S., Brown, M.H., Roberts, N.J., Paulsen, I.T., Skurray, R.A., 1998. QacR is a repressor protein that regulates expression of the *Staphylococcus aureus* multidrug efflux pump QacA. *The Journal of biological chemistry* 273, 18665-18673.
- Guardabassi, L., Stegger, M., Skov, R., 2007. Retrospective detection of methicillin resistant and susceptible *Staphylococcus aureus* ST398 in Danish slaughter pigs. *Veterinary microbiology* 122, 384-386.
- Guo, X., Peisker, K., Backbro, K., Chen, Y., Koripella, R.K., Mandava, C.S., Sanyal, S., Selmer, M., 2012. Structure and function of FusB: an elongation factor G-binding fusidic acid resistance protein active in ribosomal translocation and recycling. *Open biology* 2, 120016.
- Gurieva, T.V., Bootsma, M.C., Bonten, M.J., 2012. Decolonization of patients and health care workers to control nosocomial spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a simulation study. *BMC infectious diseases* 12, 302.
- Haddadin, A.S., Fappiano, S.A., Lipsett, P.A., 2002. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the intensive care unit. *Postgraduate medical journal* 78, 385-392.
- Hanselman, B.A., Kruth, S.A., Rousseau, J., Low, D.E., Willey, B.M., McGeer, A., Weese, J.S., 2006. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in veterinary personnel. *Emerging infectious diseases* 12, 1933-1938.
- Haroche, J., Allignet, J., El Solh, N., 2002. Tn5406, a new staphylococcal transposon conferring resistance to streptogramin A and related compounds including dalbavancin. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 46, 2337-2343.
- Hartmann, F.A., Trostle, S.S., Klohnen, A.A., 1997. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a postoperative wound infection in a horse. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 211, 590-592.
- Hasman, H., Moodley, A., Guardabassi, L., Stegger, M., Skov, R.L., Aarestrup, F.M., 2010. Spa type distribution in *Staphylococcus aureus* originating from pigs, cattle and poultry. *Veterinary microbiology* 141, 326-331.
- Heine, U. 2011. Epidemiologische Studie zum Vorkommen von MRSA (Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus*) in ökologisch wirtschaftenden Schweinebeständen (Tierärztliche Hochschule Hannover; Hannover).
- Heir, E., Sundheim, G., Holck, A.L., 1999. Identification and characterization of quaternary ammonium compound resistant staphylococci from the food industry. *International journal of food microbiology* 48, 211-219.
- Heng, Y.K., Tan, K.T., Sen, P., Chow, A., Leo, Y.S., Lye, D.C., Chan, R.K., 2013. *Staphylococcus aureus* and topical fusidic acid use: results of a clinical audit on antimicrobial resistance. *International journal of dermatology*.
- Ho, J., O'Donoghue, M., Guardabassi, L., Moodley, A., Boost, M., 2012. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from pig carcasses in Hong Kong. *Zoonoses and public health* 59, 416-423.
- Huang, H., Flynn, N.M., King, J.H., Monchaud, C., Morita, M., Cohen, S.H., 2006. Comparisons of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and hospital-associated MRSA infections in Sacramento, California. *Journal of clinical microbiology* 44, 2423-2427.
- Huijsdens, X.W., Bosch, T., van Santen-Verheuevel, M.G., Spalburg, E., Pluister, G.N., van Luit, M., Heck, M.E., Haenen, A., de Neeling, A.J., 2009. Molecular characterisation of PFGE non-typable methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in The Netherlands, 2007. *Euro surveillance : bulletin europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 14.

- Huletsky, A., Giroux, R., Rossbach, V., Gagnon, M., Vaillancourt, M., Bernier, M., Gagnon, F., Truchon, K., Bastien, M., Picard, F.J., van Belkum, A., Ouellette, M., Roy, P.H., Bergeron, M.G., 2004. New real-time PCR assay for rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from specimens containing a mixture of staphylococci. *Journal of clinical microbiology* 42, 1875-1884.
- Ito, T., Katayama, Y., Asada, K., Mori, N., Tsutsumimoto, K., Tiensasitorn, C., Hiramatsu, K., 2001. Structural comparison of three types of staphylococcal cassette chromosome mec integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 45, 1323-1336.
- Jansen van Rensburg, M.J., Whitelaw, A.C., Elisha, B.G., 2012. Genetic basis of rifampicin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* suggests clonal expansion in hospitals in Cape Town, South Africa. *BMC microbiology* 12, 46.
- John, M.A., Burden, J., Stuart, J.I., Reyes, R.C., Lannigan, R., Milburn, S., Diagre, D., Wilson, B., Hussain, Z., 2009. Comparison of three phenotypic techniques for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus* spp. reveals a species-dependent performance. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 63, 493-496.
- Jones, R.N., Ballou, C.H., Biedenbach, D.J., Deinhart, J.A., Schentag, J.J., 1998. Antimicrobial activity of quinupristin-dalfopristin (RP 59500, Synercid) tested against over 28,000 recent clinical isolates from 200 medical centers in the United States and Canada. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 31, 437-451.
- Jordan, D., Simon, J., Fury, S., Moss, S., Giffard, P., Maiwald, M., Southwell, P., Barton, M.D., Axon, J.E., Morris, S.G., Trott, D.J., 2011. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by veterinarians in Australia. *Australian veterinary journal* 89, 152-159.
- Journal, B.M., 1961. Treatment of squint in children. *British Medical Journal*, 113.
- Juhász-Kaszanyitzky, E., Janosi, S., Somogyi, P., Dan, A., van der Graaf-van Bloois, L., van Duijkeren, E., Wagenaar, J.A., 2007. MRSA transmission between cows and humans. *Emerging infectious diseases* 13, 630-632.
- Kadlec, K., Ehricht, R., Monecke, S., Steinacker, U., Kaspar, H., Mankertz, J., Schwarz, S., 2009. Diversity of antimicrobial resistance pheno- and genotypes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from diseased swine. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 64, 1156-1164.
- Kadlec, K., Fessler, A.T., Hauschild, T., Schwarz, S., 2012. Novel and uncommon antimicrobial resistance genes in livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 18, 745-755.
- Kadlec, K., Pomba, C.F., Couto, N., Schwarz, S., 2010. Small plasmids carrying *vga(A)* or *vga(C)* genes mediate resistance to lincosamides, pleuromutilins and streptogramin A antibiotics in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from swine. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 65, 2692-2693.
- Kadlec, K., Schwarz, S., 2009. Identification of a novel trimethoprim resistance gene, *dfrK*, in a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 strain and its physical linkage to the tetracycline resistance gene *tet(L)*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 53, 776-778.
- Kahl, B.C., Mellmann, A., Deiwick, S., Peters, G., Harmsen, D., 2005. Variation of the polymorphic region X of the protein A gene during persistent airway infection of cystic fibrosis patients reflects two independent mechanisms of genetic change in *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology* 43, 502-505.
- Katayama, Y., Ito, T., Hiramatsu, K., 2000. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 44, 1549-1555.
- Kehrenberg, C., Schwarz, S., 2006. Distribution of florfenicol resistance genes *fexA* and *cfr* among chloramphenicol-resistant *Staphylococcus* isolates. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 50, 1156-1163.

Literaturverzeichnis

- Khanna, T., Friendship, R., Dewey, C., Weese, J.S., 2008. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* colonization in pigs and pig farmers. *Veterinary microbiology* 128, 298-303.
- Kirby, W.M., 1944. Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant *Staphylococci*. *Science (New York, N.Y.)* 99, 452-453.
- Klare, I., Witte, W., Wendt, C., Werner, G., 2012. [Vancomycin-resistant enterococci (VRE). Recent results and trends in development of antibiotic resistance]. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz* 55, 1387-1400.
- Klein, E., Smith, D.L., Laxminarayan, R., 2007. Hospitalizations and deaths caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, United States, 1999-2005. *Emerging infectious diseases* 13, 1840-1846.
- Klein, E., Smith, D.L., Laxminarayan, R., 2009. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in outpatients, United States, 1999-2006. *Emerging infectious diseases* 15, 1925-1930.
- Kock, R., Harlizius, J., Bressan, N., Laerberg, R., Wieler, L.H., Witte, W., Deurenberg, R.H., Voss, A., Becker, K., Friedrich, A.W., 2009. Prevalence and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among pigs on German farms and import of livestock-related MRSA into hospitals. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* 28, 1375-1382.
- Kock, R., Schaumburg, F., Mellmann, A., Koksai, M., Jurke, A., Becker, K., Friedrich, A.W., 2013. Livestock-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) as Causes of Human Infection and Colonization in Germany. *PloS one* 8, e55040.
- Koljalg, S., Naaber, P., Mikelsaar, M., 2002. Antibiotic resistance as an indicator of bacterial chlorhexidine susceptibility. *The Journal of hospital infection* 51, 106-113.
- Konig, B., Prevost, G., König, W., 1997. Composition of staphylococcal bi-component toxins determines pathophysiological reactions. *Journal of medical microbiology* 46, 479-485.
- Koripella, R.K., Chen, Y., Peisker, K., Koh, C.S., Selmer, M., Sanyal, S., 2012. Mechanism of elongation factor-G-mediated fusidic acid resistance and fitness compensation in *Staphylococcus aureus*. *The Journal of biological chemistry* 287, 30257-30267.
- Kouyos, R., Klein, E., Grenfell, B., 2013. Hospital-Community Interactions Foster Coexistence between Methicillin-Resistant Strains of *Staphylococcus aureus*. *PLoS pathogens* 9, e1003134.
- Kreusok, K., Fetsch, A., Kraushaar, B., Alt, K., Müller, K., Kromker, V., Zessin, K.H., Kasbohrer, A., Tenhagen, B.A., 2012. Prevalence, antimicrobial resistance, and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from bulk tank milk of dairy herds. *Journal of dairy science* 95, 4382-4388.
- Krieter, S.H.M.G.J., 2006. *Nutztierhaltung und Hygiene*. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart, Stuttgart.
- Layer, F., Cuny, C., Strommenger, B., Werner, G., Witte, W., 2012. [Current data and trends on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)]. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz* 55, 1377-1386.
- Lebensmittelsicherheit, B.f.V.u. 2013. Hintergrundinformation: Zahlen über die Antibiotikaabgabe 2011 in der Tiermedizin nach Regionen und Wirkstoffklassen.
- Lee, H., Lim, H., Bae, I.K., Yong, D., Jeong, S.H., Lee, K., Chong, Y., 2013. Coexistence of mupirocin and antiseptic resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Korea. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 75, 308-312.
- Lee, J.H., 2003. Methicillin (Oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. *Applied and environmental microbiology* 69, 6489-6494.
- Leedom Larson, K.R., Harper, A.L., Hanson, B.M., Male, M.J., Wardyn, S.E., Dressler, A.E., Wagstrom, E.A., Tendolkar, S., Diekema, D.J., Donham, K.J., Smith, T.C., 2011. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pork production shower facilities. *Applied and environmental microbiology* 77, 696-698.
- Leedom Larson, K.R., Wagstrom, E.A., Donham, K.J., Harper, A.L., Hanson, B.M., Male, M.J., Smith, T.C., 2012. MRSA in pork production shower facilities: an intervention to reduce occupational exposure. *Journal of agricultural safety and health* 18, 5-9.

- Lewis, H.C., Molbak, K., Reese, C., Aarestrup, F.M., Selchau, M., Sorum, M., Skov, R.L., 2008. Pigs as source of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 infections in humans, Denmark. *Emerging infectious diseases* 14, 1383-1389.
- Liao, R.Z., Thiel, W., 2013. Determinants of Regioselectivity and Chemoselectivity in Fosfomycin Resistance Protein FosA from QM/MM Calculations. *The journal of physical chemistry. B* 117, 1326-1336.
- Lim, K.T., Hanifah, Y.A., Yusof, M., Thong, K.L., 2012. *ermA*, *ermC*, *tetM* and *tetK* are essential for erythromycin and tetracycline resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from a tertiary hospital in Malaysia. *Indian journal of medical microbiology* 30, 203-207.
- Linde, H.J.L., N., 2008. Community-associated MRSA: Klinik, Therapie, Hygiene. *Krankenhaushygiene* up2date 3, 29-44.
- Littlejohn, T.G., Paulsen, I.T., Gillespie, M.T., Tennent, J.M., Midgley, M., Jones, I.G., Purewal, A.S., Skurray, R.A., 1992. Substrate specificity and energetics of antiseptic and disinfectant resistance in *Staphylococcus aureus*. *FEMS microbiology letters* 74, 259-265.
- Liu, Q.Z., Wu, Q., Zhang, Y.B., Liu, M.N., Hu, F.P., Xu, X.G., Zhu, D.M., Ni, Y.X., 2010. Prevalence of clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) with high-level mupirocin resistance in Shanghai and Wenzhou, China. *International journal of antimicrobial agents* 35, 114-118.
- Llarrull, L.I., Prorok, M., Mobashery, S., 2010. Binding of the gene repressor BlaI to the bla operon in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biochemistry* 49, 7975-7977.
- Llarrull, L.I., Toth, M., Champion, M.M., Mobashery, S., 2011. Activation of BlaR1 protein of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, its proteolytic processing, and recovery from induction of resistance. *The Journal of biological chemistry* 286, 38148-38158.
- Loeffler, A., Boag, A.K., Sung, J., Lindsay, J.A., Guardabassi, L., Dalsgaard, A., Smith, H., Stevens, K.B., Lloyd, D.H., 2005. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 56, 692-697.
- Loeffler, A., Lloyd, D.H., 2010. Companion animals: a reservoir for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community? *Epidemiology and infection* 138, 595-605.
- Loeffler, A., Pfeiffer, D.U., Lindsay, J.A., Magalhaes, R.J., Lloyd, D.H., 2010. Prevalence of and risk factors for MRSA carriage in companion animals: a survey of dogs, cats and horses. *Epidemiology and infection*, 1-10.
- Lopez-Aguilera, S., Goni-Yeste, M.D., Barrado, L., Gonzalez-Rodriguez-Salinas, M.C., Otero, J.R., Chaves, F., 2013. [*Staphylococcus aureus* nasal colonization in medical students: Importance in nosocomial transmission.]. *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica*.
- Löscher, H.-H.F.W., 2010. *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin*, Vol 3. vollständig überarbeitete Auflage. Enke Verlag, Stuttgart.
- Lozano, C., Aspiroz, C., Ara, M., Gomez-Sanz, E., Zarazaga, M., Torres, C., 2011a. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ST398 in a farmer with skin lesions and in pigs of his farm: clonal relationship and detection of *lnu(A)* gene. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 17, 923-927.
- Lozano, C., Aspiroz, C., Lasarte, J.J., Gomez-Sanz, E., Zarazaga, M., Torres, C., 2011b. Dynamic of nasal colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 and ST1 after mupirocin treatment in a family in close contact with pigs. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases* 34, e1-7.
- Luna, V.A., Heiken, M., Judge, K., Ulep, C., Van Kirk, N., Luis, H., Bernardo, M., Leitao, J., Roberts, M.C., 2002. Distribution of *mef(A)* in gram-positive bacteria from healthy Portuguese children. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 46, 2513-2517.
- Lyon, B.R., Skurray, R., 1987. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus*: genetic basis. *Microbiological reviews* 51, 88-134.

Literaturverzeichnis

- Ma, X.X., Sun, D.D., Wang, S., Wang, M.L., Li, M., Shang, H., Wang, E.H., Luo, E.J., 2011. Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among preclinical medical students: epidemiologic and molecular characteristics of methicillin-resistant *S. aureus* clones. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 70, 22-30.
- Mackenzie, A.M., Richardson, H., Lannigan, R., Wood, D., 1995. Evidence that the National Committee for Clinical Laboratory Standards disk test is less sensitive than the screen plate for detection of low-expression-class methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology* 33, 1909-1911.
- Maes, N., Magdalena, J., Rottiers, S., De Gheldre, Y., Struelens, M.J., 2002. Evaluation of a triplex PCR assay to discriminate *Staphylococcus aureus* from coagulase-negative *Staphylococci* and determine methicillin resistance from blood cultures. *Journal of clinical microbiology* 40, 1514-1517.
- Malhotra-Kumar, S., Abrahantes, J.C., Sabiiti, W., Lammens, C., Vercauteren, G., Ieven, M., Molenberghs, G., Aerts, M., Goossens, H., 2010. Evaluation of chromogenic media for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology* 48, 1040-1046.
- Mammina, C., Cala, C., Bonura, C., Di Carlo, P., Aleo, A., Fasciana, T., Giammanco, A., 2012. Polyclonal non multiresistant methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates from clinical cases of infection occurring in Palermo, Italy, during a one-year surveillance period. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials* 11, 17.
- Manian, F.A., 2003. Asymptomatic nasal carriage of mupirocin-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a pet dog associated with MRSA infection in household contacts. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 36, e26-28.
- Martinko, M., 2009. Brock Mikrobiologie, Vol 11. aktualisierte Auflage. Pearson Studium.
- Mayer, S., Boos, M., Beyer, A., Fluit, A.C., Schmitz, F.J., 2001. Distribution of the antiseptic resistance genes *qacA*, *qacB* and *qacC* in 497 methicillin-resistant and -susceptible European isolates of *Staphylococcus aureus*. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 47, 896-897.
- Mayr, M.R.A., 2007. Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre, Vol 8. überarbeitete Auflage. Enke Verlag Stuttgart.
- McMullen, K.M., Warren, D.K., Woeltje, K.F., 2009. The changing susceptibilities of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a midwestern hospital: the emergence of "community-associated" MRSA. *American journal of infection control* 37, 454-457.
- McNeil, J.C., Hulten, K.G., Kaplan, S.L., Mason, E.O., 2011. Mupirocin resistance in *Staphylococcus aureus* causing recurrent skin and soft tissue infections in children. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 55, 2431-2433.
- Meemken, D., Blaha, T., Tegeler, R., Tenhagen, B.A., Guerra, B., Hammerl, J.A., Hertwig, S., Kasbohrer, A., Appel, B., Fetsch, A., 2010. Livestock associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LaMRSA) isolated from lesions of pigs at necropsy in northwest Germany between 2004 and 2007. *Zoonoses and public health* 57, e143-148.
- Meemken, D., Cuny, C., Witte, W., Eichler, U., Staudt, R., Blaha, T., 2008. [Occurrence of MRSA in pigs and in humans involved in pig production--preliminary results of a study in the northwest of Germany]. *DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift* 115, 132-139.
- Mellmann, A., Weniger, T., Berssenbrugge, C., Keckevoet, U., Friedrich, A.W., Harmsen, D., Grundmann, H., 2008. Characterization of clonal relatedness among the natural population of *Staphylococcus aureus* strains by using *spa* sequence typing and the BURP (based upon repeat patterns) algorithm. *Journal of clinical microbiology* 46, 2805-2808.
- Merlino, J., Leroi, M., Bradbury, R., Veal, D., Harbour, C., 2000. New chromogenic identification and detection of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus*. *Journal of clinical microbiology* 38, 2378-2380.
- Meyer, L. 2011. Untersuchung zum Vorkommen und zur Kolonisationsdynamik von Methicillinresistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) bei Schweinen in Zuchtbeständen in Nordwestdeutschland (Tierärztliche Hochschule Hannover; Hannover).

- Mitchell, B.A., Brown, M.H., Skurray, R.A., 1998. QacA multidrug efflux pump from *Staphylococcus aureus*: comparative analysis of resistance to diamidines, biguanidines, and guanyldihydrazones. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 42, 475-477.
- Monecke, S., Jatzwauk, L., Weber, S., Slickers, P., Ehricht, R., 2008. DNA microarray-based genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from Eastern Saxony. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 14, 534-545.
- Moodley, A., Latronico, F., Guardabassi, L., 2011. Experimental colonization of pigs with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): insights into the colonization and transmission of livestock-associated MRSA. *Epidemiology and infection* 139, 1594-1600.
- Moodley, A., Nightingale, E.C., Stegger, M., Nielsen, S.S., Skov, R.L., Guardabassi, L., 2008. High risk for nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among Danish veterinary practitioners. *Scandinavian journal of work, environment & health* 34, 151-157.
- Morales, G., Picazo, J.J., Baos, E., Candel, F.J., Arribi, A., Pelaez, B., Andrade, R., de la Torre, M.A., Fereres, J., Sanchez-Garcia, M., 2010. Resistance to linezolid is mediated by the *cfr* gene in the first report of an outbreak of linezolid-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 50, 821-825.
- Morcillo, A., Castro, B., Rodriguez-Alvarez, C., Gonzalez, J.C., Sierra, A., Montesinos, M.I., Abreu, R., Arias, A., 2012. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs and pig workers in Tenerife, Spain. *Foodborne pathogens and disease* 9, 207-210.
- Morgan, M., 2008. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and animals: zoonosis or humanosis? *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 62, 1181-1187.
- Morris, D.O., Lautenbach, E., Zaoutis, T., Leckerman, K., Edelstein, P.H., Rankin, S.C., 2012. Potential for pet animals to harbour methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* when residing with human MRSA patients. *Zoonoses and public health* 59, 286-293.
- Mulders, M.N., Haenen, A.P., Geenen, P.L., Vesseur, P.C., Poldervaart, E.S., Bosch, T., Huijsdens, X.W., Hengeveld, P.D., Dam-Deisz, W.D., Graat, E.A., Mevius, D., Voss, A., Van De Giessen, A.W., 2010. Prevalence of livestock-associated MRSA in broiler flocks and risk factors for slaughterhouse personnel in The Netherlands. *Epidemiology and infection* 138, 743-755.
- Murchan, S., Kaufmann, M.E., Deplano, A., de Ryck, R., Struelens, M., Zinn, C.E., Fussing, V., Salmenlinna, S., Vuopio-Varkila, J., El Solh, N., Cuny, C., Witte, W., Tassios, P.T., Legakis, N., van Leeuwen, W., van Belkum, A., Vindel, A., Laconcha, I., Garaizar, J., Haeggman, S., Olsson-Liljequist, B., Ransjo, U., Coombes, G., Cookson, B., 2003. Harmonization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for epidemiological typing of strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a single approach developed by consensus in 10 European laboratories and its application for tracing the spread of related strains. *Journal of clinical microbiology* 41, 1574-1585.
- Naimi, T.S., LeDell, K.H., Como-Sabetti, K., Borchardt, S.M., Boxrud, D.J., Etienne, J., Johnson, S.K., Vandenesch, F., Fridkin, S., O'Boyle, C., Danila, R.N., Lynfield, R., 2003. Comparison of community- and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 290, 2976-2984.
- Nathaus, R., Blaha, T., Tegeler, R., Meemken, D., 2010. [Intra-herd prevalence and colonisation dynamics of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in two pig breeding herds]. *Berliner und Munchener tierarztliche Wochenschrift* 123, 221-228.
- Nemati, M., Hermans, K., Lipinska, U., Denis, O., Deplano, A., Struelens, M., Devriese, L.A., Pasmans, F., Haesebrouck, F., 2008. Antimicrobial resistance of old and recent *Staphylococcus aureus* isolates from poultry: first detection of livestock-associated methicillin-resistant strain ST398. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 52, 3817-3819.
- Noguchi, N., Hase, M., Kitta, M., Sasatsu, M., Deguchi, K., Kono, M., 1999. Antiseptic susceptibility and distribution of antiseptic-resistance genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *FEMS microbiology letters* 172, 247-253.

Literaturverzeichnis

- O'Mahony, R., Abbott, Y., Leonard, F.C., Markey, B.K., Quinn, P.J., Pollock, P.J., Fanning, S., Rossney, A.S., 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from animals and veterinary personnel in Ireland. *Veterinary microbiology* 109, 285-296.
- O'Neill, A.J., Huovinen, T., Fishwick, C.W., Chopra, I., 2006. Molecular genetic and structural modeling studies of *Staphylococcus aureus* RNA polymerase and the fitness of rifampin resistance genotypes in relation to clinical prevalence. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 50, 298-309.
- Okuma, K., Iwakawa, K., Turnidge, J.D., Grubb, W.B., Bell, J.M., O'Brien, F.G., Coombs, G.W., Pearman, J.W., Tenover, F.C., Kapi, M., Tiensasitorn, C., Ito, T., Hiramatsu, K., 2002. Dissemination of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in the community. *Journal of clinical microbiology* 40, 4289-4294.
- Oliveira, D.C., Crisostomo, I., Santos-Sanches, I., Major, P., Alves, C.R., Aires-de-Sousa, M., Thege, M.K., de Lencastre, H., 2001. Comparison of DNA sequencing of the protein A gene polymorphic region with other molecular typing techniques for typing two epidemiologically diverse collections of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology* 39, 574-580.
- Otter, J.A., French, G.L., 2010. Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *The Lancet infectious diseases* 10, 227-239.
- Otter, J.A., Kearns, A.M., French, G.L., Ellington, M.J., 2010. Panton-Valentine leukocidin-encoding bacteriophage and gene sequence variation in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 16, 68-73.
- Paulsen, I.T., Brown, M.H., Dunstan, S.J., Skurray, R.A., 1995. Molecular characterization of the staphylococcal multidrug resistance export protein QacC. *Journal of bacteriology* 177, 2827-2833.
- Paulsen, I.T., Brown, M.H., Littlejohn, T.G., Mitchell, B.A., Skurray, R.A., 1996. Multidrug resistance proteins QacA and QacB from *Staphylococcus aureus*: membrane topology and identification of residues involved in substrate specificity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93, 3630-3635.
- Perichon, B., Courvalin, P., 2004. Heterologous expression of the enterococcal vanA operon in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 48, 4281-4285.
- Persoons, D., Van Hoorebeke, S., Hermans, K., Butaye, P., de Kruif, A., Haesebrouck, F., Dewulf, J., 2009. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in poultry. *Emerging infectious diseases* 15, 452-453.
- Pletinckx, L.J., Verhegghe, M., Crombe, F., Dewulf, J., De Bleecker, Y., Rasschaert, G., Butaye, P., Goddeeris, B.M., De Man, I., 2013. Evidence of possible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 spread between pigs and other animals and people residing on the same farm. *Preventive veterinary medicine* 109, 293-303.
- Poulsen, A.B., Skov, R., Pallesen, L.V., 2003. Detection of methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci and in staphylococci directly from simulated blood cultures using the EVIGENE MRSA Detection Kit. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 51, 419-421.
- Prabhu, K., Rao, S., Rao, V., 2011. Inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococcus aureus* Isolated from Clinical Samples. *Journal of laboratory physicians* 3, 25-27.
- Prevost, G., Cribier, B., Couppie, P., Petiau, P., Supersac, G., Finck-Barbancon, V., Monteil, H., Piemont, Y., 1995. Panton-Valentine leukocidin and gamma-hemolysin from *Staphylococcus aureus* ATCC 49775 are encoded by distinct genetic loci and have different biological activities. *Infection and immunity* 63, 4121-4129.
- Rammekamp, M., 1942. Resistance of *Staphylococcus aureus* to the action of penicillin. *Proc Roy Soc Exper Biol Med* 51, 386-389.
- Rankin, S., Roberts, S., O'Shea, K., Maloney, D., Lorenzo, M., Benson, C.E., 2005. Panton valentine leukocidin (PVL) toxin positive MRSA strains isolated from companion animals. *Veterinary microbiology* 108, 145-148.

- Rasschaert, G., Vanderhaeghen, W., Dewaele, I., Janez, N., Huijsdens, X., Butaye, P., Heyndrickx, M., 2009. Comparison of fingerprinting methods for typing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* sequence type 398. *Journal of clinical microbiology* 47, 3313-3322.
- Richter, A., Sting, R., Popp, C., Rau, J., Tenhagen, B.A., Guerra, B., Hafez, H.M., Fetsch, A., 2012. Prevalence of types of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in turkey flocks and personnel attending the animals. *Epidemiology and infection* 140, 2223-2232.
- Roberts, A.A., Sharma, S.V., Strankman, A.W., Duran, S.R., Rawat, M., Hamilton, C.J., 2013. Mechanistic studies of FosB: a divalent-metal-dependent bacillithiol-S-transferase that mediates fosfomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *The Biochemical journal* 451, 69-79.
- Roberts, M.C., 2008. Update on macrolide-lincosamide-streptogramin, ketolide, and oxazolidinone resistance genes. *FEMS microbiology letters* 282, 147-159.
- Rosenbach, F.J., 1884. Mikroorganismen bei den Wundinfektionskrankheiten des Menschen Wiesbaden.
- Salgado, C.D., Farr, B.M., Calfee, D.P., 2003. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a meta-analysis of prevalence and risk factors. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 36, 131-139.
- Schumacher, M.A., Miller, M.C., Grkovic, S., Brown, M.H., Skurray, R.A., Brennan, R.G., 2001. Structural mechanisms of QacR induction and multidrug recognition. *Science (New York, N.Y.)* 294, 2158-2163.
- Schwaber, M.J., Navon-Venezia, S., Masarwa, S., Tirosh-Levy, S., Adler, A., Chmelnitsky, I., Carmeli, Y., Klement, E., Steinman, A., 2013. Clonal transmission of a rare methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* genotype between horses and staff at a veterinary teaching hospital. *Veterinary microbiology* 162, 907-911.
- Schwartz, D.C., Cantor, C.R., 1984. Separation of yeast chromosome-sized DNAs by pulsed field gradient gel electrophoresis. *Cell* 37, 67-75.
- Schwarz, S., Kadlec, K., Strommenger, B., 2008. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* detected in the BfT-GermVet monitoring programme 2004-2006 in Germany. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 61, 282-285.
- Schwendener, S., Perreten, V., 2011. New transposon Tn6133 in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 contains *vga(E)*, a novel streptogramin A, pleuromutilin, and lincosamide resistance gene. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 55, 4900-4904.
- Seah, C., Alexander, D.C., Louie, L., Simor, A., Low, D.E., Longtin, J., Melano, R.G., 2012. MupB, a new high-level mupirocin resistance mechanism in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 56, 1916-1920.
- Seguin, J.C., Walker, R.D., Caron, J.P., Kloos, W.E., George, C.G., Hollis, R.J., Jones, R.N., Pfaller, M.A., 1999. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak in a veterinary teaching hospital: potential human-to-animal transmission. *Journal of clinical microbiology* 37, 1459-1463.
- Sharma-Kuinkel, B.K., Ahn, S.H., Rude, T.H., Zhang, Y., Tong, S.Y., Ruffin, F., Genter, F.C., Braughton, K.R., Deleo, F.R., Barriere, S.L., Fowler, V.G., Jr., 2012. Presence of genes encoding panton-valentine leukocidin is not the primary determinant of outcome in patients with hospital-acquired pneumonia due to *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology* 50, 848-856.
- Sheng, W.H., Wang, J.T., Lauderdale, T.L., Weng, C.M., Chen, D., Chang, S.C., 2009. Epidemiology and susceptibilities of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Taiwan: emphasis on chlorhexidine susceptibility. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 63, 309-313.
- Shore, A., Rossney, A.S., Keane, C.T., Enright, M.C., Coleman, D.C., 2005. Seven novel variants of the staphylococcal chromosomal cassette *mec* in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Ireland. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 49, 2070-2083.
- Sieber, S., Gerber, V., Jandova, V., Rossano, A., Evison, J.M., Perreten, V., 2011. Evolution of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* infections in horses and colonized personnel in an equine clinic between 2005 and 2010. *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)* 17, 471-478.

Literaturverzeichnis

- Simor, A.E., Stuart, T.L., Louie, L., Watt, C., Ofner-Agostini, M., Gravel, D., Mulvey, M., Loeb, M., McGeer, A., Bryce, E., Matlow, A., 2007. Mupirocin-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in Canadian hospitals. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 51, 3880-3886.
- Sing, A., Tuschak, C., Hormansdorfer, S., 2008. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a family and its pet cat. *The New England journal of medicine* 358, 1200-1201.
- Sjoquist, J., Meloun, B., Hjelm, H., 1972. Protein A isolated from *Staphylococcus aureus* after digestion with lysostaphin. *European journal of biochemistry / FEBS* 29, 572-578.
- Smith, K., Gemmell, C.G., Hunter, I.S., 2008. The association between biocide tolerance and the presence or absence of *qac* genes among hospital-acquired and community-acquired MRSA isolates. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 61, 78-84.
- Smith, T.C., Male, M.J., Harper, A.L., Kroeger, J.S., Tinkler, G.P., Moritz, E.D., Capuano, A.W., Herwaldt, L.A., Diekema, D.J., 2009. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strain ST398 is present in midwestern U.S. swine and swine workers. *PloS one* 4, e4258.
- Springer, B., Orendi, U., Much, P., Hoger, G., Ruppitsch, W., Krziwanek, K., Metz-Gercek, S., Mittermayer, H., 2009. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a new zoonotic agent? *Wiener klinische Wochenschrift* 121, 86-90.
- Starke, A.F.H., 2009. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, Vol 10. überarbeitete Auflage. Urban und Fischer Verlag München.
- Suller, M.T., Russell, A.D., 1999. Antibiotic and biocide resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococcus. *The Journal of hospital infection* 43, 281-291.
- Sunde, M., Tharaldsen, H., Marstein, L., Haugum, M., Norstrom, M., Jacobsen, T., Lium, B., 2011. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* sequence type 8 in pigs, production environment, and human beings. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 23, 348-350.
- Tacconelli, U.F.E., 2012. *The Daschner Guide to In-Hospital Antibiotic Therapy*, Vol 2nd edition. Springer Medizin Verlag Heidelberg, Heidelberg.
- Tenhagen, B.A., Fetsch, A., Stuhrenberg, B., Schleuter, G., Guerra, B., Hammerl, J.A., Hertwig, S., Kowall, J., Kampe, U., Schroeter, A., Braunig, J., Kasbohrer, A., Appel, B., 2009. Prevalence of MRSA types in slaughter pigs in different German abattoirs. *The Veterinary record* 165, 589-593.
- Thompson, R.L., Cabezudo, I., Wenzel, R.P., 1982. Epidemiology of nosocomial infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Annals of internal medicine* 97, 309-317.
- Toh, S.M., Xiong, L., Arias, C.A., Villegas, M.V., Lolans, K., Quinn, J., Mankin, A.S., 2007. Acquisition of a natural resistance gene renders a clinical strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* resistant to the synthetic antibiotic linezolid. *Molecular microbiology* 64, 1506-1514.
- Tomlin, J., Pead, M.J., Lloyd, D.H., Howell, S., Hartmann, F., Jackson, H.A., Muir, P., 1999. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in 11 dogs. *The Veterinary record* 144, 60-64.
- Trzcinski, K., Cooper, B.S., Hryniewicz, W., Dowson, C.G., 2000. Expression of resistance to tetracyclines in strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 45, 763-770.
- Tsuji, B.T., Rybak, M.J., Cheung, C.M., Amjad, M., Kaatz, G.W., 2007. Community- and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a comparison of molecular epidemiology and antimicrobial activities of various agents. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 58, 41-47.
- Udo, E.E., Sarkhoo, E., 2010. Genetic analysis of high-level mupirocin resistance in the ST80 clone of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of medical microbiology* 59, 193-199.
- Van Cleef, B.A., Broens, E.M., Voss, A., Huijsdens, X.W., Zuchner, L., Van Benthem, B.H., Kluytmans, J.A., Mulders, M.N., Van De Giessen, A.W., 2010. High prevalence of nasal MRSA carriage in

- slaughterhouse workers in contact with live pigs in The Netherlands. *Epidemiology and infection* 138, 756-763.
- van Cleef, B.A., Graveland, H., Haenen, A.P., van de Giessen, A.W., Heederik, D., Wagenaar, J.A., Kluytmans, J.A., 2011. Persistence of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in field workers after short-term occupational exposure to pigs and veal calves. *Journal of clinical microbiology* 49, 1030-1033.
- Van den Eede, A., Martens, A., Feryn, I., Vanderhaeghen, W., Lipinska, U., Gasthuys, F., Butaye, P., Haesebrouck, F., Hermans, K., 2012. Low MRSA prevalence in horses at farm level. *BMC veterinary research* 8, 213.
- Van den Eede, A., Martens, A., Lipinska, U., Struelens, M., Deplano, A., Denis, O., Haesebrouck, F., Gasthuys, F., Hermans, K., 2009. High occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in equine nasal samples. *Veterinary microbiology* 133, 138-144.
- van Duijkeren, E., Ikawaty, R., Broekhuizen-Stins, M.J., Jansen, M.D., Spalburg, E.C., de Neeling, A.J., Allaart, J.G., van Nes, A., Wagenaar, J.A., Fluit, A.C., 2008. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains between different kinds of pig farms. *Veterinary microbiology* 126, 383-389.
- van Duijkeren, E., Jansen, M.D., Flemming, S.C., de Neeling, H., Wagenaar, J.A., Schoormans, A.H., van Nes, A., Fluit, A.C., 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs with exudative epidermitis. *Emerging infectious diseases* 13, 1408-1410.
- van Duijkeren, E., Moleman, M., Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M.M., Multem, J., Troelstra, A., Fluit, A.C., van Wamel, W.J., Houwers, D.J., de Neeling, A.J., Wagenaar, J.A., 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel: an investigation of several outbreaks. *Veterinary microbiology* 141, 96-102.
- van Loo, I., Huijsdens, X., Tiemersma, E., de Neeling, A., van de Sande-Bruinsma, N., Beaujean, D., Voss, A., Kluytmans, J., 2007. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of animal origin in humans. *Emerging infectious diseases* 13, 1834-1839.
- Vandendriessche, S., Kadlec, K., Schwarz, S., Denis, O., 2011. Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* ST398-t571 harbouring the macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance gene *erm*(T) in Belgian hospitals. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 66, 2455-2459.
- Vandenesch, F., Naimi, T., Enright, M.C., Lina, G., Nimmo, G.R., Heffernan, H., Liassine, N., Bes, M., Greenland, T., Reverdy, M.E., Etienne, J., 2003. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerging infectious diseases* 9, 978-984.
- Vanderhaeghen, W., Cerpentier, T., Adriaensen, C., Vicca, J., Hermans, K., Butaye, P., 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ST398 associated with clinical and subclinical mastitis in Belgian cows. *Veterinary microbiology* 144, 166-171.
- Vicca, V., Carpentier, Butaye, 2008. Prevalence at herd-level of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in milk samples of dairy herds. T.J.Lam, *Mastitis control from science to practice*, Wageningen, 71-75 pp.
- Vitale, C.B., Gross, T.L., Weese, J.S., 2006. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in cat and owner. *Emerging infectious diseases* 12, 1998-2000.
- Voss, A., Loeffen, F., Bakker, J., Klaassen, C., Wulf, M., 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerging infectious diseases* 11, 1965-1966.
- Wagenaar, J.A., Yue, H., Pritchard, J., Broekhuizen-Stins, M., Huijsdens, X., Mevius, D.J., Bosch, T., Van Duijkeren, E., 2009. Unexpected sequence types in livestock associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): MRSA ST9 and a single locus variant of ST9 in pig farming in China. *Veterinary microbiology* 139, 405-409.
- Walsh, S.E., Maillard, J.Y., Russell, A.D., Catrenich, C.E., Charbonneau, D.L., Bartolo, R.G., 2003. Development of bacterial resistance to several biocides and effects on antibiotic susceptibility. *The Journal of hospital infection* 55, 98-107.
- Wang, J.T., Sheng, W.H., Wang, J.L., Chen, D., Chen, M.L., Chen, Y.C., Chang, S.C., 2008. Longitudinal analysis of chlorhexidine susceptibilities of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus*

Literaturverzeichnis

- aureus isolates at a teaching hospital in Taiwan. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 62, 514-517.
- Wang, L., Liu, Y., Yang, Y., Huang, G., Wang, C., Deng, L., Zheng, Y., Fu, Z., Li, C., Shang, Y., Zhao, C., Sun, M., Li, X., Yu, S., Yao, K., Shen, X., 2012. Multidrug-resistant clones of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from Chinese children and the resistance genes to clindamycin and mupirocin. *Journal of medical microbiology* 61, 1240-1247.
- Weese, J.S., Archambault, M., Willey, B.M., Hearn, P., Kreiswirth, B.N., Said-Salim, B., McGeer, A., Likhoshvay, Y., Prescott, J.F., Low, D.E., 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel, 2000-2002. *Emerging infectious diseases* 11, 430-435.
- Weese, J.S., Caldwell, F., Willey, B.M., Kreiswirth, B.N., McGeer, A., Rousseau, J., Low, D.E., 2006a. An outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections resulting from horse to human transmission in a veterinary hospital. *Veterinary microbiology* 114, 160-164.
- Weese, J.S., Dick, H., Willey, B.M., McGeer, A., Kreiswirth, B.N., Innis, B., Low, D.E., 2006b. Suspected transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and in the household. *Veterinary microbiology* 115, 148-155.
- Weese, J.S., Rousseau, J., Willey, B.M., Archambault, M., McGeer, A., Low, D.E., 2006c. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses at a veterinary teaching hospital: frequency, characterization, and association with clinical disease. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 20, 182-186.
- Weese, J.S., van Duijken, E., 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Veterinary microbiology* 140, 418-429.
- Weigel, L.M., Clewell, D.B., Gill, S.R., Clark, N.C., McDougal, L.K., Flannagan, S.E., Kolonay, J.F., Shetty, J., Killgore, G.E., Tenover, F.C., 2003. Genetic analysis of a high-level vancomycin-resistant isolate of *Staphylococcus aureus*. *Science (New York, N.Y.)* 302, 1569-1571.
- Wenzel, R.P., Perl, T.M., 1995. The significance of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and the incidence of postoperative wound infection. *The Journal of hospital infection* 31, 13-24.
- Werner, G., Cuny, C., Schmitz, F.J., Witte, W., 2001. Methicillin-resistant, quinupristin-dalfopristin-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced sensitivity to glycopeptides. *Journal of clinical microbiology* 39, 3586-3590.
- Wichelhaus, T.A., Schafer, V., Brade, V., Boddington, B., 1999. Molecular characterization of *rpoB* mutations conferring cross-resistance to rifamycins on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 43, 2813-2816.
- Witte, W., Strommenger, B., Cuny, C., Heuck, D., Nuebel, U., 2007a. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the Pantone-Valentine leucocidin gene in Germany in 2005 and 2006. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 60, 1258-1263.
- Witte, W., Strommenger, B., Stanek, C., Cuny, C., 2007b. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in humans and animals, Central Europe. *Emerging infectious diseases* 13, 255-258.
- Wood, J.B., Smith, D.B., Baker, E.H., Brecher, S.M., Gupta, K., 2012. Has the emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* increased trimethoprim-sulfamethoxazole use and resistance?: a 10-year time series analysis. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 56, 5655-5660.
- Woodin, A.M., 1959. Fractionation of a leucocidin from *Staphylococcus aureus*. *The Biochemical journal* 73, 225-237.
- Woodin, A.M., 1960. Purification of the two components of leucocidin from *Staphylococcus aureus*. *The Biochemical journal* 75, 158-165.
- Wulf, M., van Nes, A., Eikelenboom-Boskamp, A., de Vries, J., Melchers, W., Klaassen, C., Voss, A., 2006. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in veterinary doctors and students, the Netherlands. *Emerging infectious diseases* 12, 1939-1941.
- Wulf, M.W., Sorum, M., van Nes, A., Skov, R., Melchers, W.J., Klaassen, C.H., Voss, A., 2008. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among veterinarians: an international study. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 14, 29-34.

- Yuan, W., Hu, Q., Cheng, H., Shang, W., Liu, N., Hua, Z., Zhu, J., Hu, Z., Yuan, J., Zhang, X., Li, S., Chen, Z., Hu, X., Fu, J., Rao, X., 2013. Cell wall thickening is associated with adaptive resistance to amikacin in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*.
- Zhou, W., Shan, W., Ma, X., Chang, W., Zhou, X., Lu, H., Dai, Y., 2012. Molecular characterization of rifampicin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in a Chinese teaching hospital from Anhui, China. *BMC microbiology* 12, 240.
- Ziegler, K. 2006. Die Bedeutung der Biofilmbildung von *Staphylococcus aureus* für die bakterielle Persistenz im Respirationstrakt von Patienten mit der Erbkrankheit Mukoviszidose (Tübingen, Eberhard Karls Universität).
- Zinderman, C.E., Conner, B., Malakooti, M.A., LaMar, J.E., Armstrong, A., Bohnker, B.K., 2004. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among military recruits. *Emerging infectious diseases* 10, 941-944.
- Zmantar, T., Chaieb, K., Ben Abdallah, F., Ben Kahla-Nakbi, A., Ben Hassen, A., Mahdouani, K., Bakhrouf, A., 2008. Multiplex PCR detection of the antibiotic resistance genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from auricular infections. *Folia microbiologica* 53, 357-362.

Tabellenverzeichnis

Tabellenverzeichnis	Seite
Tabelle 1: Virulenzgene von <i>S. aureus</i> , modifiziert nach Foster (2002)	7
Tabelle 2: Ablauf des Thermo Cycler Protokolls modifiziert nach „Identibac <i>S. aureus</i> Genotyping Kit“ (Fa. Alere Germany)	49
Tabelle 3: Pipetierschema C3/C4 Reagenz, nach Identibac <i>S. aureus</i> Genotyping Kit (Fa. Alere Germany)	50
Tabelle 4: Untersuchte und MRSA-positive Tiernasentupferproben	55
Tabelle 5: Untersuchte und MRSA-positive Umgebungsproben	56
Tabelle 6: Übersicht der MRSA-positiven Proben der beruflich exponierten Gruppe	56
Tabelle 7: Darstellung der Verteilung der <i>Qac</i> -Gene auf die verschiedenen MLST-Typen von MRSA	67

	Abbildus
Abbildungsverzeichnis	Seite
Abbildung 1 : Entnahme einer Nasentupferprobe	36
Abbildung 2 : Entnahme einer Nasentupferprobe	36
Abbildung 3 : Entnahme einer Staubprobe	37
Abbildung 4 : Entnahme einer Staubprobe	37
Abbildung 5 : Sockentupfer	38
Abbildung 6 : Sockentupfer vor Stallbegehung	38
Abbildung 7 : Spielketten im Stallabteil	39
Abbildung 8 : Staph.Plus-Test; obere Testreihe mit positiven Ergebnissen, untere Kontrollreihe negativ	41
Abbildung 9 : SkimMilk Röhren	42
Abbildung 10 : MALDI-TOF	43
Abbildung 11 : zu beimpfende Metalltargets	43
Abbildung 12 : Arbeitsplatz Durchführung Resistenzuntersuchung via Vitek 2	45
Abbildung 13 : Agardiffusionstest mit Hemmhof auf beimpfter Platte	45
Abbildung 14 : Arbeitsplatz Durchführung Agardiffusionstest	46
Abbildung 15 : ArrayMate Untersuchungsgerät (Fa. Alere Technologies GmbH)	47
Abbildung 16 : Array-Streifen steril verpackt und Tragerahmen	51
Abbildung 17 : Array-Streifen fertig zur Untersuchung	51
Abbildung 18 : Arbeitsablaufprotokoll MicroArray (Fa. Alere Germany)	52
Abbildung 19 : Darstellung der Bundesländer, in welchen Betriebe beprobt wurden	53
Abbildung 20 : Verteilung der Probenanzahl auf die einzelnen Bundesländer	54
Abbildung 21 : Verteilung der beprobten Landwirte auf die Betriebe	57

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 22 : Antibiotikaresistenz der MRSA aus dem Schweinereservoir in n	58
Abbildung 23 : Antibiotikaresistenz der MRSA aus der Stallumgebung in n	59
Abbildung 24 : Antibiotikaresistenz der MRSA der beruflich exponierten Personen in n	60
Abbildung 25 : Antibiotikaresistenz der MRSA der Krankenhauspatienten in n	61
Abbildung 26 : Antibiotikaresistenzgene der MRSA aus dem Schweinereservoir in n	62
Abbildung 27 : Antibiotikaresistenzgene der MRSA aus der Stallumgebung in n	63
Abbildung 28 : Antibiotikaresistenzgene der MRSA der beruflich exponierten Personen in n	65
Abbildung 29 : Antibiotikaresistenzgene der MRSA der Krankenhauspatienten in n	66
Abbildung 30 : Verteilung aller genotypisierten Proben auf MLST-Typen	68
Abbildung 31 : Verteilung der MLST-Typen in der Gruppe der Krankenhauspatienten	70
Abbildung 32 : Verteilung der MLST-Typen in der Subgruppe der infizierten Patienten	71
Abbildung 33 : Verteilung der MLST-Typen in der Subgruppe der kolonisierten Patienten	71
Abbildung 34 : Verteilung der SCCmec-Typen in der Subgruppe der infizierten Patienten	72
Abbildung 35 : Verteilung der SCCmec-Typen in der Subgruppe der kolonisierten Patienten	72

Antibiotic resistance in LA-MRSA compared to MRSA in hospitalised patients

C.P.Bieber^{1,2}, N.T.Mutters^{1*}, C.Hauck^{1,2}, G.Reiner¹, U.Frank¹

¹Department of Infectious Diseases, Medical Microbiology and Hygiene, Heidelberg University Hospital, Im Neuenheimerfeld 324, 69120 Heidelberg, Germany
²Department for Swine Diseases, Justus-Liebig-University Gießen, Frankfurter Straße 112, D-35392 Gießen, Germany

Introduction and Purpose

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is an important pathogen which has also spread to animal livestock. Transfer of MRSA isolates including exchange of numerous resistance genes might occur between livestock and humans. Livestock-associated MRSA (LA-MRSA) represent a threatening genetic reservoir for healthcare facilities and result in the loss of effectiveness of antibiotics. The antibiotics most commonly used in livestock in Germany in 2005 were tetracyclines (350 tonnes), sulphonamides (98 t), and aminoglycosides (36 t). This study was initiated to determine the antibiotic resistance of MRSA in porcine isolates in order to compare resistance data of MRSA isolates obtained from inpatients admitted to Heidelberg University Hospital.



Methods

Nasal swabs were collected from 27 farms in four German Federal States. For comparison MRSA-isolates from inpatients of Heidelberg University Hospital were prospectively collected. Swabs were inoculated on Columbia sheep blood agar plate (BD) and chromogenic plate (ChromAgarII; BD); incubated aerobically for 48h at 36 °C. MRSA-growth was confirmed by MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics) and qRT-PCR (meca, femB). Susceptibility-testing was performed by VITEK2 (bioMérieux).

*Correspondence: Dr. N. T. Mutters, Email: nico.mutters@med.uni-heidelberg.de

Results

- A total of 166 porcine MRSA- and 220 human MRSA-isolates were analysed
- All porcine isolates (n=166) were resistant to tetracyclines, only 7.7% (n=17) of the human isolates showed resistance
- Quinolone resistance was higher in human (80.9%; n=178) than in porcine MRSA (9%; n=15)
- Trimethoprim/sulfamethoxazole resistance was higher in pigs (47.5%; n=79) compared to human isolates (3.2%; n=7)
- Aminoglycosides showed higher resistance in pigs (20.5%; n=34) than in humans (3.2%; n=7)

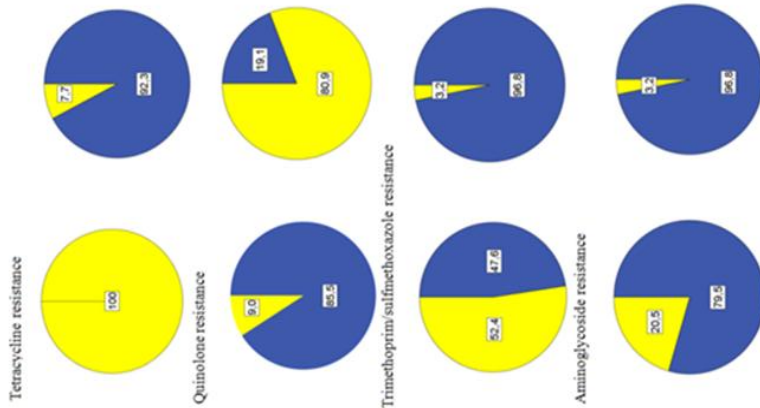


Figure 1: Resistance patterns of porcine (left side) and human isolates (right side); resistant = yellow; sensitive = blue

Table 1: Resistance rates of porcine and human isolates

Conclusions

- Antibiotic usage in livestock is associated with high resistance rates
- Antibiotic resistance patterns of porcine MRSA and MRSA from hospitalised patients differ greatly
- Porcine MRSA show high resistance rates against antibiotic classes commonly used in livestock
 - 100% resistance to tetracyclines
 - 52.4% resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole
 - 20.5% resistance to aminoglycosides

Erklärung

Ich erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der "Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis" niedergelegt sind, eingehalten.

Christian Bieber

Danksagung

Ich bedanke mich sehr herzlich bei meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. Dr. G. Reiner für die Bereitstellung dieses aktuellen und hochinteressanten Themas, die stets ehrlich und aufrichtig geübte Kritik und die sehr schnellen Korrekturen und Antworten.

Meinem praktischen Betreuer Herrn Professor Dr. U. Frank danke ich ebenso herzlich für die Bereitschaft fächerübergreifend und sehr engagiert diese Arbeit zu begleiten, die sachliche Kritik, die großzügige Bereitstellung eines hochmodernen Labors und den tiefen Einblick in die Welt der Humanmedizin.

Mein Dank gilt meinem lieben Kollegen Herrn Dr. N. T. Mutters für Rat, Hilfe und viel Geduld in allen Fragen.

Besonderer Dank gilt dem Laborteam der Krankenhaushygiene, meinen Kollegen der Schweineklinik und den Studenten der JLU Gießen.

Ich danke Herrn Dr. E. Lohner vom TGD Baden-Württemberg für den sehr angenehmen Tag.

Bedanken möchte ich mich ganz besonders bei den Landwirten und praktischen Tierärzten, ohne deren Hilfe und großes Entgegenkommen keinerlei Forschungsarbeit möglich ist.

Meinem Bruder M. W. Bieber danke ich für intelligente Anregungen, Kritik und lesen, lesen, lesen. Meinen Freunden mag ich danken für endlose vergnügliche Stunden in Heidelberg, München, sowie Leipzig, und moralische Unterstützung.

Meiner Großmutter H. R. Lindsay für Antrieb, Förderung und Lehren.

Meinen Eltern H. M. Lindsay-Bieber und P. M. Bieber danke ich für aufopferungsvolle Unterstützung und die Möglichkeit jedweden Weg gehen zu können mit der Gewissheit dabei nie alleine zu sein.

ISBN 978-3-86345-240-7



**Verlag: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft Service GmbH
35392 Gießen · Friedrichstraße 17 · Tel. 0641 / 24466 · Fax: 0641 / 25375
E-Mail: info@dvg.de · Internet: www.dvg.de**